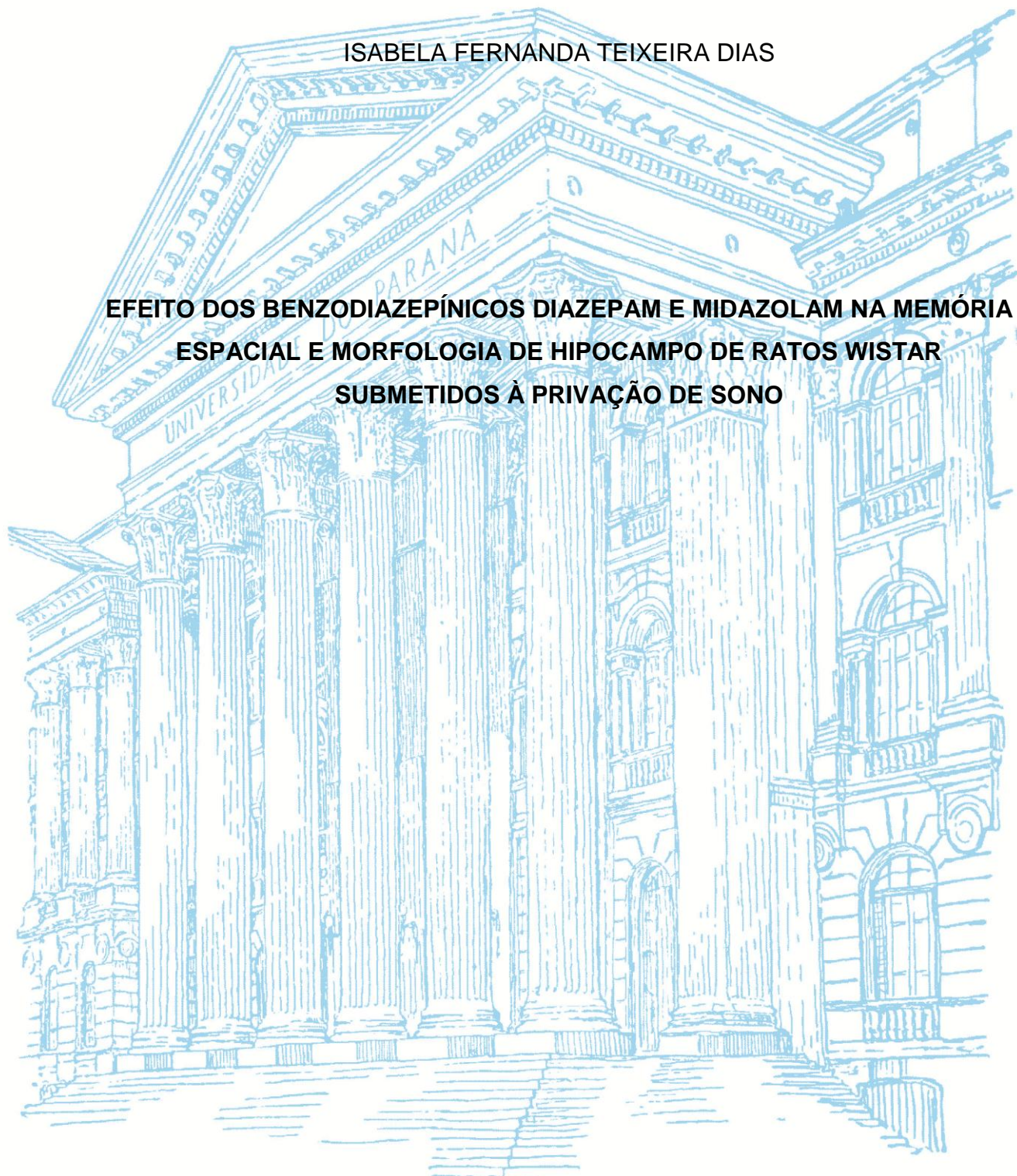


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ISABELA FERNANDA TEIXEIRA DIAS

**EFEITO DOS BENZODIAZEPÍNICOS DIAZEPAM E MIDAZOLAM NA MEMÓRIA
ESPACIAL E MORFOLOGIA DE HIPOCAMPO DE RATOS WISTAR
SUBMETIDOS À PRIVAÇÃO DE SONO**



PALOTINA

2017

ISABELA FERNANDA TEIXEIRA DIAS

**EFEITO DOS BENZODIAZEPÍNICOS DIAZEPAM E MIDAZOLAM NA MEMÓRIA
ESPACIAL E MORFOLOGIA DE HIPOCAMPO DE RATOS WISTAR
SUBMETIDOS À PRIVAÇÃO DE SONO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, área de concentração em Saúde Animal, linha de pesquisa em Patologia Animal, Setor Palotina, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Profa. Dra. Erica Cristina Bueno do Prado Guirro

PALOTINA

2017

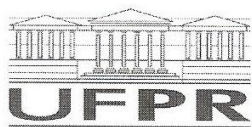
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

D541 Dias, Isabela Fernanda Teixeira
 Efeito dos benzodiazepínicos diazepam e midazolam na
 memória espacial e morfologia de hipocampo de ratos wistar
 submetidos à privação de sono / Isabela Fernanda Teixeira Dias .
 - Palotina, 2017.
 55 f.

 Orientadora: Erica Cristina Bueno do Prado Guirro.
 Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná,
 Setor Palotina, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal.

 1. Benzodiazepínicos. 2. Diazepam . 3. Insônia. 4. Memória.
 5. Midazolam. 6. Hipocampo. I. Guirro, Erica Cristina Bueno do
 Prado. II . Universidade Federal do Paraná. III. Título.

CDU 619:615



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
Setor PALOTINA
Programa de Pós-Graduação CIÊNCIA ANIMAL

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **ISABELA FERNANDA TEIXEIRA DIAS** intitulada: **EFEITO DOS BENZODIAZEPÍNICOS DIAZEPAM E MIDAZOLAM NA MEMÓRIA ESPACIAL E MORFOLOGIA DE HIPOCAMPO DE RATOS WISTAR SUBMETIDOS À PRIVAÇÃO DE SONO**, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua aprovação.

Palotina, 30 de Março de 2017.

ERICA CRISTINA BUENO DO PRADO GUIRRO
Presidente da Banca Examinadora (UFPR)

BETTINA MONIKA RUPPELT

Avaliador Externo (UFPR)

ALINE DE MARCO VIOTT
Avaliador Interno (UFPR)

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Isabela Fernanda Teixeira Dias, filha de Vera Lúcia Teixeira e Maxwell Dias da Silva, nascida em 12 de agosto de 1989, na cidade de Belo Horizonte, Estado de Minas Gerais ingressou no curso de Zootecnia na Universidade Federal de Viçosa (UFV) em 2008 e, em 2010, se transferiu para o curso de Medicina Veterinária na mesma instituição. Obteve o título de Médica Veterinária em 2013 e ingressou na iniciativa privada por um ano, onde atuou no registro de produtos de uso veterinário. Em março de 2015 iniciou o Mestrado em Ciência Animal pela Universidade Federal do Paraná - Setor Palotina.

Dedico essa dissertação aos meus pais, Vera e Maxwell, ao meu irmão Alexandre, e ao meu marido Ériton que, com muito carinho e apoio, não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa de minha vida.

A vitória dessa conquista dedico com todo meu amor a vocês!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha orientadora Dra. Erica Guirro, um exemplo de ética e cidadania, pela orientação nas atividades do mestrado. Muito obrigada por acreditar na minha capacidade e me aceitar como orientada, e, sobretudo pela paciência ao longo desses dois anos de mestrado.

Aos estagiários Lettycia, Thamires, Amanda e Miguel por todo esforço e dedicação na condução dos experimentos. Sem o apoio de vocês esse projeto não seria possível.

À equipe de patologia da UFPR setor Palotina, em especial professora Aline, residente Mônica e ao estagiário João, pelas contribuições e sugestões no trabalho.

Aos meus amigos do Mestrado, Paula, Tatiane, Wellington e Priscila pela oportunidade de convivência e amizade.

“O que prevemos raramente ocorre; o que menos esperamos geralmente acontece.”

Benjamim Disraeli

RESUMO

O sono é um processo fisiológico fundamental para manutenção da homeostase do organismo. Alterações no padrão de sono podem estar associadas diretamente a déficits de memória e cognição. Diversas classes farmacológicas são utilizadas para o tratamento da insônia, dentre elas, os benzodiazepínicos (BZPs) recebem destaque como a classe mais empregada no seu tratamento. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a memória espacial e morfologia de hipocampo de ratos Wistar submetidos a privação de sono por 48 horas. Para tanto foram empregados 31 ratos Wistar de 45 dias de vida, divididos em quatro grupos experimentais: dentre eles três grupos privados de sono pelo método da plataforma múltipla modificada e tratados respectivamente com NaCl 0,9% (GS), diazepam 2mg/kg (GD) ou midazolam (GM) 1mg/kg; e um Grupo Controle (GC) no qual não foi realizado privação de sono e tratamento medicamentoso. Os testes de memória foram realizados empregando o labirinto aquático de Morris (LAM), após o período de privação do sono no terceiro (D3) e vigésimo quarto dia de estudo (D24). No trigésimo oitavo dia de estudo (D38) foram realizados testes no LAM, sem a privação do sono nos animais. Ao final dos testes no LAM foi realizada avaliação morfológica do hipocampo nos grupos experimentais. Os dados foram submetidos à análise estatística por meio da análise de variância ANOVA seguido por Tukey, com nível de significância de 5%. No teste realizado LAM demonstrou que os grupos tratados com os BZPs (GD e GM) apresentaram desempenho inferior ao GS para encontrar a plataforma submersa. Não foram observadas alterações decorrentes do efeito dos BZPs diazepam e midazolam na morfologia do hipocampo de ratos Wistar.

Palavras-chave: benzodiazepínicos, diazepam, insônia, memória, midazolam, hipocampo

ABSTRACT

Sleep is a fundamental physiological process for maintaining homeostasis of the organism. Changes in sleep patterns may be directly associated with memory and cognition deficits. Several drug classes are used for the treatment of insomnia, among them, benzodiazepines are given prominence as the most used class in the treatment of insomnia. The objective of this study was to evaluate the memory and hippocampus morphology of Wistar rats subjected to sleep deprivation for 48 hours. Were used 31 Wistar rats of 45 days old were divided into four experimental groups: three of them deprived of sleep by the modified multiple platform method and treated with 0.9% NaCl (GS), Diazepam 2 mg / kg (GD) or midazolam (GM) 1mg / kg; and a Control Group (CG) without insomnia and drug treatment. Memory tests were performed using the Morris Aquatic Labyrinth (LAM), after the sleep deprivation period in the third (D3) and the twenty-fourth day of study (D24). On the thirty-eighth day of study (D38) tests were performed on LAM, without sleep deprivation in the animals. Histological hippocampal evaluation was performed in all experimental groups. Data were statistically analyzed by ANOVA followed by Tukey, with 5% significance level. In the test performed in the MWM showed that the groups treated with benzodiazepines (GD and GM) had underperformed the GS. There were no changes resulting from the effect of benzodiazepines diazepam and midazolam in hippocampus morphology of Wistar rats.

Keywords: benzodiazepines, diazepam, insomnia, memory, midazolam, hippocampus

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	FIGURA ESQUEMÁTICA DA PLATAFORMA MÚLTIPLA MODIFICADA UTILIZADA PARA A PRIVAÇÃO DE SONO EM RATOS WISTAR DEMONSTRANDO A DISPOSIÇÃO DAS PLATAFORMAS CIRCULARES DISPOSTAS NO TANQUE PREENCHIDO COM ÁGUA.....	41
FIGURA 2	LABIRINTO AQUÁTICO DE MORRIS FORMADO POR UMA PISCINA DE FIBRA DE VIDRO, COM ÁGUA TURVA E FIGURAS GEOMÉTRICAS COM CORES DIFERENTES DISPOSTAS ALTERNADAMENTE EM QUATRO QUADRANTES PARA FACILITAR A LOCALIZAÇÃO DOS RATOS NO ESPAÇO.....	43
FIGURA 3	HISTOPATOLOGIA DE HIPOCAMPO DE RATOS WISTAR SUBMETIDOS A DIFERENTES PROTOCOLOS TERAPÊUTICOS E DE INSÔNIA. A) IMAGEM DE HIPOCAMPO NORMAL SEM ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS. H&E, 20X. B) NEURÔNIOS HIPOCAMPAIS EM MAIOR AUMENTO. NOTAR A ORGANIZAÇÃO LAMINAR DOS NEURÔNIOS E A AUSÊNCIA DE OUTRAS CÉLULAS GLIAIS. H&E, 40X. C) HIPOCAMPO DE RATO WISTAR DO GS. H&E, 20X. D) EM MAIOR AUMENTO PERCEBE-SE INFILTRAÇÃO DE ASTRÓCITOS (ASTROCITOSE) COM DISTINTA DESORGANIZAÇÃO DAS LÂMINAS HIPOCAMPAIS (SETA). H&E, 40X. E) HIPOCAMPO DE RATO DO GD. H&E, 20X. F) NOTAR INFILTRADO ASTROCITÁRIO DIFUSO ENTRE AS LÂMINAS DE NEURÔNIOS HIPOCAMPAIS (SETA). H&E, 40X. G) HIPOCAMPO DE RATO DO GC. H&E, 20X. H) NOTAR A PRESENÇA DE INFILTRADOS DE ASTÓCITOS ENTRE AS LÂMINAS HIPOCAMPAIS (SETA). H&E, 40X.....	50

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - VALORES (MÉDIA \pm DESVIO PADRÃO) RELATIVOS AO TEMPO (EM SEGUNDOS) QUE RATOS WISTAR TRATADOS COM NACL 0,9% (GS), DIAZEPAM (GD) OU MIDAZOLAM (GM) LEVARAM PARA ENCONTRAR A PLATAFORMA SUBMERSA NO LABIRINTO AQUÁTICO DE MORRIS.....

45

TABELA 2 - VALORES (MÉDIA \pm DESVIO PADRÃO) RELATIVOS AO TEMPO (EM SEGUNDOS) QUE RATOS WISTAR TRATADOS COM NACL 0,9% (GS), DIAZEPAM (GD) OU MIDAZOLAM (GM) PERMANECERAM NO QUADRANTE EM QUE ESTAVA LOCALIZADA A PLATAFORMA SUBMERSA NO LABIRINTO AQUÁTICO DE MORRIS.....

45

LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA	-	Análise de Variância
BZPs	-	Benzodiazepínicos
EEG	-	Eletroencefalograma
EOG	-	Eletrooculograma
EMG	-	Eletromiograma
GABA	-	Ácido gama-amino-butírico
GABA _A	-	Receptor benzodiazepínico do ácido gama-amino-butírico A
GABA _B	-	Receptor benzodiazepínico do ácido gama-amino-butírico B
GABA _C	-	Receptor benzodiazepínico do ácido gama-amino-butírico C
GC	-	Grupo controle
GD	-	Grupo Diazepam
GM	-	Grupo Midazolam
GS	-	Grupo solução salina
HE	-	Hematoxilina – eosina
H.M.	-	Paciente Harry Molaison
LAM	-	Labirinto aquático de Morris
LTP	-	Potenciação de longa duração
NREM	-	Sem o movimento rápido dos olhos
REM	-	<i>Rapid eye movement</i> - movimento rápido do olho
SNC	-	Sistema nervoso central

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	13
2 OBJETIVOS.....	15
3 CAPITULO 1 - REVISÃO: SONO, MEMÓRIA E BENZODIAZEPÍNICOS.....	16
3.1 SONO E MEMÓRIA	16
3.1.1 ARQUITETURA DO SONO	17
3.2 MEMÓRIA	19
3.2.1 ESTRUTURAS ENVOLVIDAS NO PROCESSO DA MEMÓRIA.....	23
3.3 INSÔNIA	24
3.4 PRIVAÇÃO DE SONO EM ROEDORES	26
3.5 BENZODIAZEPÍNICOS	27
REFERÊNCIAS.....	30
 4 CAPITULO 2 - EFEITO DOS BENZODIAZEPÍNICOS DIAZEPAM E MIDAZOLAM NA MEMÓRIA ESPACIAL E MORFOLOGIA DE HIPOCAMPO DE RATOS WISTAR SUBMETIDOS À PRIVAÇÃO DE SONO	 38
4.1 INTRODUÇÃO.....	38
4.2 MATERIAL E MÉTODOS	40
4.2.1 ANIMAIS.....	40
4.2.2 CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS.....	40
4.2.3 TRATAMENTOS	40
4.2.4 PRIVAÇÃO DE SONO	41
4.2.5 TESTE DE MEMÓRIA	42
4.2.6 COLETA DO HIPOCAMPO	44
4.2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA	44
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
4.4 CONCLUSÕES GERAIS.....	51
REFERÊNCIAS.....	52
 REFERÊNCIAS.....	 56

1 INTRODUÇÃO GERAL

O sono é um estado comportamental comum a diversas espécies do reino animal que tem gerado grande fascínio dos povos desde a antiguidade. Durante séculos acreditava-se que o sono era um estado passivo marcado somente pelo comportamento de suspensão normal da consciência cuja função primordial consistia na restauração corporal e mental do organismo (TIMO-IARIA, 2008).

O sono é um estado fisiológico que consome aproximadamente um terço de nossas vidas. Apesar do grande período de tempo devotado a esse comportamento, a sua real ação fisiológica sobre um organismo ainda não é bem compreendida, sendo alvo de diversos estudos para elucidação de suas funções (MAQUET, 2001; KANDEL et al., 2014). Atualmente, sabe-se que esse estado é de fundamental importância para a manutenção da homeostase do organismo, regulação do sistema imune (RECHTSCHAFFEN, 1998) saúde mental (MARTINS et al., 2001) e consolidação da memória (STICKGOLD et al., 1999; STICKGOLD et al., 2000).

A imobilidade aparente e o estado de cessação do contato com o mundo exterior são características patentes do sono e foram responsáveis por desenvolver incontáveis mitos sobre a origem e o significado do sono em humanos (GANHITO, 2003; TIMO-IARIA, 2008). Porém, foi a partir da década de 30 com avanços consideráveis sobre o estudo do sono que mudaram radicalmente a abordagem experimental sobre seus mecanismos, possibilitando maior compreensão sobre o assunto e diminuindo a mistificação gerada por esse estado (TIMO-IARIA, 2008; GOMES, 2015).

Com o desenvolvimento de ferramentas eletrofisiológicas como o eletroencefalograma (EEG), eletromiograma (EMG) e o eletrooculograma (EOG), foi possível constatar que o sono não se tratava de um estado passivo em que se ocorria apenas a perda da consciência (LOOMIS et al., 1937; RECHSTCHAFFEN e KALES, 1968). A partir desses registros foi possível verificar que o sono é um estado ativo, constituído por dois estágios que apresentam padrões eletroencefalográficos distintos que se repetem ciclicamente e que se alternam ritmicamente com o estado de vigília (LOOMIS et al., 1937; RECHSTCHAFFEN e KALES, 1968). Esses estágios são conhecidos como sono REM (*rapid eye movement*) e sono não REM (N-REM) (LOOMIS et al., 1937; RECHSTCHAFFEN e KALES, 1968).

O aprendizado e a memória são fenômenos comportamentais relacionados a propriedades de plasticidade do sistema nervoso central e fazem parte do desenvolvimento normal de um indivíduo (IZQUIERDO, 1989). A memória apresenta vários sistemas dinâmicos sensíveis a modulações funcionais que garante a nossa capacidade de lidar de forma apropriada com as várias demandas do dia a dia, sendo responsável por nos fornecer uma resposta comportamental adequada a cada estímulo fornecido (LANDEIRA-FERNANDEZ e BRANDÃO, 2014). Estudos têm demonstrado a importância do sono e seus efeitos positivos sobre a memória e aprendizagem. Uma das importantes hipóteses levantadas é que o sono atua como regulador neuronal na consolidação da memória (GRAVES et al., 2001; STICKGOLD et al., 2001).

A consolidação da memória e aprendizagem pode ser determinada pelo tempo gasto em estados de vigília, sono ou em determinados estágios do sono, e em especial o sono REM (WALKER et al., 2003; COENEN, 2005). Durante o sono REM ocorre a síntese de proteínas necessárias para a expansão das redes neurais ligadas a memória e ao aprendizado (COENEN, 2005; VALLE et al., 2009). Dessa forma, alterações no padrão de sono de um indivíduo podem gerar prejuízos nas capacidades cognitivas e processos mnemônicos (VALLE, 2009).

A insônia é um problema de saúde pública que apresenta alta prevalência na população mundial (OHAYON, 2002; PASSOS et al., 2007). É considerado o distúrbio de sono mais comum, sendo responsável por gerar perdas na produtividade e custos associados a acidentes (MORIN, 2004; KANDEL et al., 2014). Em adição existem outros problemas que estão associados a insônia, dentre eles, os prejuízos nas capacidades cognitivas e nos processos mnemônicos

A insônia não é considerada uma doença, mas sim um sintoma e uma síndrome que pode ocorrer isoladamente ou apresentar caráter multifatorial, associado a várias doenças orgânicas de base ou emocionais (MORIN et al., 2004; NUNES e CAVALCANTE, 2005; SUMMERS-BREMNER, 2007). Diversas terapias podem ser empregadas no tratamento da insônia, dentre elas as terapias cognitivas higiene do sono, fototerapia e tratamento medicamentoso (MORIN, 1993; MORIN et al., 1994; PASSOS et al., 2007). Dentre as classes farmacológicas mais utilizadas para o tratamento a curto prazo da insônia destacam-se os benzodiazepínicos, que atuam alterando a arquitetura do sono (POYARES et al., 2004).

2 OBJETIVOS

Avaliar parte dos efeitos dos benzodiazepínicos diazepam e midazolam sobre a memória espacial e morfologia de hipocampo de *Rattus norvegicus albinus* variedade Wistar sob privação de sono.

3 CAPÍTULO 1 - REVISÃO: SONO, MEMÓRIA E BENZODIAZEPÍNICOS

3.1 SONO E MEMÓRIA

A completa compreensão da fisiologia do sono é essencial para entender seus efeitos benéficos sobre a homeostase e os efeitos deletérios decorrentes de sua privação, e em particular sobre a memória. Até o presente momento a especulação sobre a função do sono ainda é abundante e não está bem esclarecida. Inúmeros estudos tem documentado consequências negativas decorrentes da perturbação do ciclo sono-vigília em humanos e modelos animais, demonstrando danos significativos a saúde e bem estar do organismo (KRUEGUER et al., 1999; COLAVITO et al., 2013). Dessa forma, é indiscutível a importância do sono na manutenção da homeostase de mamíferos.

O sono é um estado fisiológico funcional complexo e reversível, que ocorre de maneira cíclica em todas as faixas etárias de uma grande variedade de espécies do reino animal (BUELA, 1990; FERNANDES, 2006). Embora apresente inconsciência e imobilidade, o sono não é um estado passivo do sistema nervoso. É um fenômeno ativo que apresenta fases sequenciais distintas e bem caracterizadas que podem ser observadas por meio de exames polissonográficos e pelas características motoras e posturais próprias (ASERINSKY e KLEITMAN, 1953).

Os conceitos de sono presentes atualmente foram definidos com base em aspectos funcionais e em manifestações comportamentais realizadas em humanos e animais (RECHSTCHAFFEN e KALES, 1968; TIMO-IARIA, 1985). Dentre as manifestações comportamentais pode-se citar o repertório limitado de movimentos pela suspensão temporária da atividade motora voluntária; aumento do limiar de resposta aos estímulos externos, variações nos parâmetros biológicos e da atividade mental (BUELA, 1990).

A quantidade e qualidade de sono tem papel fundamental para a homeostase, restauração física e mental do organismo (MARTINS et al., 2001) e manutenção do sistema imune (RECHTSCHAFFEN, 1998). Rechtschaffen e Bergmann (1995) demonstraram que ratos privados de sono por várias semanas apresentaram alterações no padrão de termoregulação, desregulação do peso corporal e morte por infecções quando comparado com o grupo controle.

O sono é um estado que se alterna ritmicamente com a vigília em diversas fases consecutivas que se repetem ciclicamente. Uma perturbação no padrão desse ciclo pode resultar em outros danos significativos a saúde, como redução da eficiência do processo de cognição, responsividade e déficit de memória (McCARTHY e WATERS, 1997; GRAVES et al., 2003).

É sugerido que a consolidação da memória para uma variedade de tarefas em seres humanos e animais ocorre após a formação do sono (STICKGOLD et al., 1999; STICKGOLD et al., 2000). Uma das principais hipóteses é que o sono atue como um regulador da função neuronal durante o armazenamento da memória (GRAVES et al., 2001), otimizando a consolidação da memória recém adquirida (DIEKELMANN e BORN, 2010), que pode ser observado pelo efeito negativo que a privação de sono possui sobre a aprendizagem (SMITH e BUTLER, 1982) e aumento da quantidade de sono após a aquisição de memórias (FISHBEIN et al., 1974).

A consolidação da memória e aprendizagem pode ser determinada pelo tempo gasto em estados de vigília, sono ou em determinados estágios do sono (WALKER et al., 2003; COENEN, 2008). Dessa forma, a memória torna-se dependente do sono e um comprometimento na sua qualidade pode resultar em um déficit do desempenho em humanos e roedores (WALKER et al., 2003; STICKGOLD, 2005).

3.1.1 Arquitetura do sono

A compreensão atual sobre o padrão de sono e os mecanismos envolvidos na sua indução e manutenção originou-se de estudos envolvendo atividades elétricas corticais. No ano de 1875 o médico inglês Richard Caton registrou as primeiras atividades elétricas espontâneas no córtex de mamíferos com o uso de eletrodos não polarizados (SILVA JUNIOR 1945; GOMES, 2015).

Os primeiros registros da atividade elétrica cerebral em humanos foram publicados pelo neuropsiquiatra Hans Berger em 1929 e foram base para uma das mais importantes ferramentas do estudo funcional do cérebro, o eletroencefalograma ou EEG (SILVA JUNIOR 1945; BAKER, 1990). A partir do advento dessa técnica foi possível realizar a análise e entendimento do sono como processo fisiológico,

desmitificando a visão simplificada de que o sono consistia em um processo passivo que ocorria simplesmente pela retirada da vigília (“teoria do processo passivo”) (DEMENT, 1998).

O EEG é uma ferramenta eletrofisiológica capaz de mensurar a atividade neuronal pelo uso de eletrodos colocados na superfície da cabeça (BERGANTIM et al., 2003). As ondas registradas são decorrentes dos potenciais de ação pós-sinápticos gerados na membrana dos neurônios corticais (STERIADE et al., 1993). Juntamente com o EEG, outras ferramentas eletrofisiológicas tornaram possível a evolução sobre o estudo do sono, dentre elas o eletrooculograma (EOG) que registra o movimento do olhos, e o eletromiograma (EMG) que é usado para monitorar os músculos posturais na região mentoniana e submentoniana (SILBER et al., 2007). A partir de registros feitos por EEG, EOG e EMG verificou-se que o sono normal em mamíferos é constituído por dois estágios com padrões eletroencefalográficos distintos (sono REM e não-REM) e a alternância entre esses dois estágios com apresentam diferentes estágios de consciência compõe um ciclo de sono (LOOMIS et al., 1937; RECHTSCHAFFEN e KALES, 1968).

O sono REM (*rapid eye movement*), identificado em 1953 por Aserinsky e Kleitman, ocupa cerca de 20% do total de sono e está associado a uma atividade cerebral intensa semelhante ao estado de vigília, por isso é considerado sono paradoxal (LAVIE, 1996) ou sono dos sonhos. O sono REM é caracterizado pela presença de movimentos oculares rápidos com as pálpebras fechadas em indivíduos adormecidos, redução do estado de vigília, atonia ou hipotonia muscular (ASERINSKY e KLEITMAN, 1953; FERNANDES, 2006; COLAVITO et al., 2013). No EEG observa-se baixa voltagem, atividade rápida, ondas beta dessincronizadas originadas da formação reticular (STERIADE e McCARLEY, 2010) semelhantes as ondas observadas no estado de vigília (SARAIVA et al., 2005). Acredita-se que umas das suas principais funções está atribuída à restauração e a consolidação das funções cognitivas (ALÓE e SILVA, 2000) e participação ativa na plasticidade neuronal (SIEGEL, 2001).

O sono não REM (NREM) é o padrão de sono identificado por Harvey, Loomis e Hobart (MARTINS et al., 2001), caracterizado por sono mais profundo, associado a movimentos oculares lentos, baixa frequência cardíaca e respiratória, diminuição do metabolismo e redução da pressão arterial e do tônus muscular (RECHTSCHAFFEN e KALES, 1968). O sono NREM é controlado pelas áreas do

hipotálamo anterior, prosencéfalo basal e pelo núcleo ventrolateral preóptico (MAQUET et al., 1997). O EEG é caracterizado pela presença de ondas sincronizadas de baixa frequência e de acordo com a profundidade é dividido em estágios I, II, III e IV (RECHTSCHAFFEN e KALES, 1968; CARSKADON e CARSKADON, 2011).

O sono não é um processo linear. Os estágios de sono aparecem em vários ciclos alternados, iniciando fase I do sono NREM, se aprofundando até a fase IV até a passagem para o sono REM, retornando para o sono NREM (BERGANTIM et al., 2003). Esses ciclos repetem normalmente quatro a cinco vezes por noite, e têm duração relativamente constante nas espécies, que dentro de um contexto da arquitetura normal é de cerca de 90 minutos em humanos (PACE-SCHOTT e HOBSON, 2002) e de 12 minutos em ratos (MCCARLEY, 2007).

3.2 MEMÓRIA

Os animais são capazes de adquirir informações de aspectos ambientais, assim como informações provenientes do próprio organismo, de forma a registrar apenas os eventos relevantes no sistema nervoso central (SNC) (IZQUIERDO, 1989). Esse registro denomina-se memória, e possibilita a adaptação do comportamento animal ao ambiente, tornando-o capaz de preparar sua resposta de acordo com determinadas situações (GALLISTEL, 1990; ADES, 1993).

É o acervo da memória que faz de nós o que somos e o que podemos vir a ser, ela é responsável por toda nossa individualidade, sendo considerado o fator biológico que mais caracteriza o indivíduo como uma entidade particular (IZQUIERDO, 2002). Mesmo que duas pessoas vivenciem a mesma situação, a forma com que ela será armazenada será distinta entre os organismos (SOUZA e SALGADO, 2015).

Segundo Izquierdo (1989) a memória “é o armazenamento e evocação de informação adquirida através de experiências”. Dessa forma, a memória pode ser caracterizada como um registro de nossas percepções acerca do ambiente, e um produto dos nossos sentidos (BADDELEY, 1999). É por meio dela que homens e animais possuem a capacidade de armazenar informações provenientes do ambiente e dessa forma modular o seu comportamento a partir das experiências

prévias, constituindo uma estratégia fundamental para a manutenção e sobrevivência das espécies (XAVIER, 1993). Aquele animal que tem a capacidade de lembrar alguma estratégia ou atividade que possa lhe salvar a vida estará levando vantagens sobre aqueles animais que não conseguem fazer o mesmo. Essa vantagem exerce pressão seletiva no sentido que aqueles animais que sobrevivem são os que transmitem os seus genes para gerações futuras.

A memória apresenta vários sistemas dinâmicos e sensíveis a modulações funcionais que garante a nossa capacidade de lidar de forma apropriada com as várias demandas do dia a dia (LANDEIRA-FERNANDEZ e BRANDÃO, 2014). Ela corresponde a atuação de diversos processos em conjunto, e não somente a um processo unitário. Dessa forma, inúmeras classificações para os processos mnemônicos têm sido propostos baseados no conteúdo, função e tempo de duração da memória.

Existe uma grande variedade de memórias que podem ser classificadas segundo a forma com que são adquiridas. Conforme o tempo em que são armazenadas, as memórias podem ser classificadas em memória a curto prazo ou a longo prazo, ou seja, pelo tempo que estão disponíveis para evocação após sua aquisição (SOUZA e SALGADO, 2015). Conforme o tipo de informação processada podem ser classificadas em memória explícita ou declarativa, que compreende o armazenamento de conhecimentos que podem ser intencionalmente recordados, e implícita ou não declarativa, que se refere a atividades motoras e perceptivas (LOMBROSO, 2004). Ademais, há a memória espacial que não se encontra nas descrições anteriores, pois apresenta características de componentes das memórias implícitas, explícitas, curta e de longa duração.

A memória espacial consiste em um sistema no qual é possível obter uma informação proveniente de aspectos espaciais através da repetição de uma tarefa (OLTON e SAMUELSON, 1976). É o tipo de memória que o animal deve aprender e recordar-se de uma localização acessada por dicas espaciais, que lhe proporcione algum tipo de recompensa: seja segurança, comida ou água (CARRILLO-MORA et al., 2010).

A teoria do mapeamento cognitivo proposta por O'Keefe e Nadel (1978) sustenta que os animais possuem um sistema que codifica o ambiente sob a forma de mapas cognitivos. É uma das principais teorias sobre a função do hipocampo, em que foi descoberta que a taxa de disparo de neurônios do hipocampo estava

correlacionada com a localização do animal em um ambiente de teste, e que as lesões no hipocampo estavam associadas a déficits de aprendizagem (O'KEEFE e NADEL, 1978). A teoria do mapeamento cognitivo sustenta que os aspectos espaciais presentes no ambiente são atributos críticos para o processo mnemônico. Dessa forma, os animais podem aprender sobre as relações espaciais de objetos e eventos que são codificados pelo hipocampo e são capazes de percorrer labirintos percorrendo caminhos mais curtos ou mais adequados (O'KEEFE e NADEL, 1978).

Ratos têm sido utilizados extensivamente como modelos de estudo de aprendizado, funções mnemônicas e cognitivas (BARNES, 1979; MORRIS, 1981). Porém, a memória não pode ser medida de forma direta (GREEN, 1964), somente é possível fazer a avaliação do desempenho da memória em testes de evocação, que nos animais se expressa através de mudanças comportamentais (IZQUIERDO, 1989). Com o propósito de avaliar a memória e aprendizado em roedores, surgiu uma diversidade considerável de labirintos com características peculiares que permite a avaliação de processos cognitivos específicos. Esses testes surgiram da necessidade de avaliação da memória em ambientes controlados, uma vez que a avaliação em ambientes naturais tornava-se dificultada pelas interferências de estímulos externos em sua orientação. Além disso, a realização de experimentos em laboratórios tornou-se vantajosa uma vez que neste o número de variáveis é conhecido, podendo ser controlado ou até mesmo reduzido.

A maioria dos testes desenvolvidos para a avaliação da memória espacial faz o uso de labirintos, no qual o animal deve ser capaz de desempenhar determinados comportamentos de acordo com a disposição de elementos no espaço. Dentre os labirintos elaborados para avaliação comportamental da memória em roedores podem-se citar os labirintos radiais em “Y” ou “T” (OLTON e SAMUELSON, 1976); Labirinto de Barnes (BARNES, 1979) e o Labirinto Aquático de Morris (MORRIS, 1981). O labirinto aquático de Morris (LAM) tem recebido grande destaque em estudos da neurobiologia da memória (GALLAGHER et al., 1993) e é amplamente utilizado para estudar a memória espacial em roedores (MORRIS, 1981).

O LAM é um aparato configurado para avaliação da aprendizagem e memória espacial hipocampo-dependente muito utilizado para avaliar os efeitos da privação de sono (MORRIS et al., 1982). O objetivo desse aparato é que os animais aprendam a encontrar uma plataforma submersa em uma piscina com água turva

usando apenas pistas espaciais presentes no ambiente (MORRIS et al., 1982). O teste avalia a capacidade do animal para a aquisição de memória espacial, ao se mensurar a latência para que o animal localize a plataforma (MORRIS et al., 1982). A escolha desse aparato torna-se adequada, uma vez que os roedores são excelentes nadadores, além de apresentar boa capacidade de localização, o que é requerido nesse tipo de teste pelo fato dos animais serem altamente motivados para escapar da água, pelo caminho mais rápido e curto (WENK, 1998). Ou seja, o reforço positivo para o rato nesse teste é escapar do ambiente aquático. Além disso, a presença de água nesse aparato reduz a interferência relacionada ao odor e formação de trilha (SCOVILLE e MILNER, 1957).

Smith e Rose (1996) em um estudo de privação do sono REM (*rapid eye movement*) observaram que a privação do sono em ratos após o treinamento no LAM tem interferência na consolidação de memória que pode ser medido pelo aumento no tempo para encontrar a plataforma submersa. No mesmo estudo, os autores verificaram que a privação de sono REM não afeta o desempenho dos animais no labirinto aquático com a plataforma visível (hipocampo-independente) (SMITH E ROSE, 1996). Estes estudos corroboram com a ideia de que determinadas fases do sono desempenham um papel central na função neuronal do hipocampo (GRAVES et al., 2003).

Conceitualmente o processo mnemônico pode ser dividido em diferentes estágios: aquisição, consolidação e evocação. O primeiro deles é o estágio em que ocorre a aquisição ou codificação, também denominada aprendizagem que ocorre através da exposição a um estímulo, seja ele ambiental ou interno. Segundo Izquierdo (1989) o aprendizado e a memória são propriedades básicas que afetam diretamente quaisquer atividades do sistema nervoso. A aprendizagem é o processo pelo qual humanos e animais captam conhecimentos acerca do ambiente (KANDEL et al., 2002). Nela a informação é processada por sistemas sensoriais e retida temporariamente como memória de curta duração. A aprendizagem e memória apresentam distinções entre si. A primeira refere-se apenas ao processo de aquisição das informações, enquanto a memória também exerce um papel na seleção e consolidação (LENT, 2010).

O armazenamento em memória de curta duração pode ser transformado em memória de longa duração se essa memória for um elemento fundamental para a sobrevivência do organismo por meio de um processo chamado consolidação da

memória (McGOUGH, 1966; McGOUGH, 2000). Uma vez armazenada essa informação pode ser evocada sempre que necessário. A recuperação ou o esquecimento das informações memorizadas vão depender da relevância dessa informação (LENT, 2010), ou seja, o estágio de consolidação pode ser fortalecido ou enfraquecido (IZQUIERDO, 2002).

3.2.1 Estruturas envolvidas no processo da memória

Os primeiros estudos sobre os sistemas anatômicos envolvidos no processo de memória surgiram a partir de pacientes com lesões cerebrais bem delimitadas, acompanhadas por quadro de déficit de memória característico (SCOVILLE e MILNER, 1957). Um dos casos clássicos envolve um paciente que apresentava graves e perseverantes quadros epiléticos resistentes a tratamentos medicamentosos (SCOVILLE e MILNER, 1957). Scoville e Milner (1957) optaram por realizar a remoção de estruturas do lobo temporal medial com o objetivo de conter esse quadro epilético. O procedimento cirúrgico foi bem sucedido, reduzindo consideravelmente as crises convulsivas. Em contrapartida, o paciente passou a apresentar um importante prejuízo em suas funções mnemônicas atribuídas a remoção bilateral de seu hipocampo, tornando-o incapaz de reter novas informações, conhecido como amnésia anterógrada (SCOVILLE e MILNER, 1957).

A memória ocorre de forma distributiva, ou seja, a capacidade de adquirir, armazenar e evocar informações é inerente à ação em conjunto de vários subsistemas cerebrais (IZQUIERDO, 1989). Os mecanismos que selecionam as informações que eventualmente serão armazenadas variam conforme o tipo de memória. Para a formação de memórias explícitas de longa duração é necessário a participação do hipocampo, ao passo que estruturas como o corpo estriado, a amígdala e o *nucleus accubens*, estão envolvidos na formação das memórias implícitas ligadas a atividade motora e perceptivas (LOMBROSO, 2004).

O hipocampo é uma estrutura do encéfalo que está localizada dentro do lobo temporal medial, imediatamente abaixo da superfície cortical (BRADBURY, 1992). Pertence ao sistema límbico e tem grande importância na memória a longo prazo e na navegação espacial (GLOVELI, 2010). Em estudos lesionais realizados em humanos e outros mamíferos demonstraram que o hipocampo é um importante

mediador na memória de longa duração (HELMSTAEDER e ELGER, 1996), em que uma lesão em estruturas hipocampais podem ter efeito negativo sobre a memória, principalmente quando a lesão envolve ambos os lados do hipocampo (SQUIRE, 1992; PORTUGUEZ, 1998).

A consolidação é o processo pelo qual ocorre a retenção da informação a ser armazenada. Esta etapa envolve principalmente as vias neuronais do lobo temporal medial, em que está localizado o hipocampo. Estudos sugerem que o hipocampo é uma estrutura anatômica especializada no reconhecimento de ambientes (O'KEEFE e NADEL, 1978; MORRIS et al., 1982). Uma lesão bilateral do hipocampo não causa perda de memórias existentes antes da lesão, porém impede a aquisição de novas memórias (MARKOWITSCH e PRITZEL, 1985), e especificamente a capacidade de localização espacial (IZQUIERDO, 1989).

3.3 INSÔNIA

A insônia é um problema de saúde pública que apesar da elevada incidência e prevalência na população mundial, poucos pacientes recebem o tratamento adequado (SOUZA e REIMAO, 2004). É o distúrbio de sono mais comum, sendo definida como o sono de má qualidade que se caracteriza por dificuldades repetidas para iniciar e/ou manter o sono, despertar precoce, sono não restaurador, redução do estado de alerta, fadiga e exaustão (NHLBI, 1999; RIEMANN e PERLIS, 2009).

Os distúrbios do sono são fenômenos ubíquos que podem estar presentes nos indivíduos em qualquer fase da vida (WICKBOLDT, 2012). São frequentes tanto em adultos como em crianças, com maiores taxas em mulheres e idosos, e muitas vezes não são tratados pelo desconhecimento do que é considerado o padrão normal de sono (MORIN et al., 2004; NUNES e CAVALCANTE, 2005). Um estudo realizado pelo *National Institute of Mental Health* estimou que 35% da população apresente insônia e que apenas metade destes indivíduos consideram o problema como grave (NIMHCDC, 1984). Por ser uma condição de saúde pouco reconhecida e tratada, a persistência da insônia pode reduzir a qualidade de vida, a performance no trabalho e em geral resultar em um funcionamento inferior do organismo quando comparado a indivíduos sem insônia, (MORIN et al., 2004). Apesar do pouco

reconhecimento, estima-se que cerca de 30 bilhões de dólares gastos por ano nos Estados Unidos são destinados ao tratamento da insônia (JINDAL et al., 2004).

A insônia não é considerada uma doença, mas sim um sintoma e uma síndrome que pode ocorrer isoladamente ou apresentar caráter multifatorial, associado a várias doenças orgânicas de base ou emocionais (MORIN et al., 2004; NUNES e CAVALCANTE, 2005; SUMMERS-BREMNER, 2007). A classificação da insônia pode ser realizada de diversas formas em: aguda ou crônica a qual se baseia no tempo em que o paciente experimenta um sono não reparador (DOGHRAJ, 2001); leve, moderada ou grave de acordo com a intensidade dos sintomas (SCHENCK et al., 2003) ou também como primária e secundária a alguma outra desordem (McCALL, 2001).

As causas mais comuns do prejuízo no sono são a fragmentação, privação de um estágio específico do sono (sono REM) e a restrição do sono (BANKS e DINGES, 2007). A restrição do sono pode ser decorrente das atividades sociais realizadas pelo indivíduo, pelo uso de medicamentos e estilo de vida (MARTINS et al., 2001). O aumento do número de despertares noturno é característica da fragmentação e resulta em um sono de quantidade e qualidade inadequadas, sendo consequência de fatores ambientais, assim como condições médicas (LYZNICKI, 1998).

A frequência das queixas de insônia tem aumentado nos últimos anos (PIRES et al., 2007). O tratamento é recomendado quando o quadro de insônia tem impacto negativo na saúde, na qualidade do sono e nas funções diárias do paciente (SCHUTTE-RODIN et al., 2008). Uma vez que a insônia pode ser o sintoma de diversas doenças, o reconhecimento de sua causa é o primeiro passo para uma abordagem adequada do tratamento (NUNES e CAVALCANTE, 2005).

A primeira linha de tratamento de pacientes insones se baseia em tratamentos não farmacológicos como técnicas de relaxamento, higiene do sono e terapias cognitivas (KIRKWOOD, 1999). Quando não há resposta aos tratamentos não farmacológicos o tratamento da insônia passa a ser realizado com tratamento medicamentoso, embora alguns medicamentos causem prejuízos a longo prazo. Dentre os medicamentos, as opções para o tratamento da insônia incluem os benzodiazepínicos, não benzodiazepínicos, opióides, antidepressivos, melatonina e anti-histamínicos (WICKBOLDT et al., 2012). Classes como os agonistas dos

receptores benzodiazepínicos tem recebido grande destaque no tratamento de insônia (MENDELSON, 2004).

3.4 PRIVAÇÃO DE SONO EM ROEDORES

Os primeiros estudos sobre privação de sono foram realizados em cães em 1894 por Marie de Manacéine. A autora relatou que a completa abstinência de sono causava severas lesões no cérebro dos animais em poucos dias. Atualmente o modelo animal mais utilizado neste propósito são os roedores. Estas espécies tem auxiliado nos estudos de privação de sono, ritmo circadiano, bem como sobre sua interferência neuroquímica e molecular (COLAVITO et al., 2013).

Ratos e camundongos são animais notívagos e polifásicos, que passam a maior parte do período claro em inatividade, em média 70 a 80%, enquanto que no período escuro exibem atividades vitais e sociais, como a alimentação, reprodução, interação social e exploração do ambiente.(TIMO-IARIA et al., 1970). Em ratos o sono é fragmentado como uma característica de espécie predada e ocorre em grande parte durante o período claro do dia (ALBERTINI, 2008).

Foram relatados 29 protocolos distintos para induzir insônia em ratos, alguns desses métodos inibem ambos os estágios do sono, outros inibem apenas a fase REM. Alguns dos métodos são induzidos por meio de fármacos estimulantes e outros por meio de aparatos que impedem que o animal durma (REVEL et al., 2009).

Para inibição do sono REM um dos métodos mais utilizados é o da plataforma. Inicialmente quando concebido, este aparato era constituído por um tanque com apenas uma plataforma central. Porém, verificou-se que isto gerava muito estresse devido à impossibilidade do rato movimentar-se, além da privação de interação social. Atualmente sugere-se utilizar a metodologia da plataforma múltipla modificada, em que múltiplas plataformas são dispostas em um tanque preenchido com água para promover privação de sono em vários animais provenientes de uma mesma gaiola-moradia. Esta metodologia permite que os ratos se movimentem no tanque pulando de uma plataforma para outra e para interagir com os demais animais, o que reduz o estresse decorrente da imobilidade e do estresse da interação social (VAN HULZEN e COENEM, 1981; SUCHECKI et al., 1998; MACHADO et al., 2004). A plataforma permite que o animal se acomode e obtenha

sono NREM *ad libitum*, porém ao se iniciar a fase REM ocorre perda de tônus muscular e como consequência o equilíbrio postural, dessa forma o animal acaba encostando na água, o que o faz despertar. O controle ideal é um aparato semelhante porém com uma plataforma maior, que permita que o animal entre em sono REM (MORDEN et al., 1967; MENDELSON et al., 1974).

3.5 BENZODIAZEPÍNICOS

Os benzodiazepínicos (BZPs) foram introduzidos na década de 70, e desde então estão entre os sedativos hipnóticos mais utilizados para o tratamento de diversos transtornos, como a ansiedade, insônia, convulsões e espasmos musculares (PRIEST et al., 1978). Tal fato justifica-se devido à ausência de efeitos tóxicos agudos graves associados à eficiência terapêutica dessa classe quando comparado com os demais sedativos no mercado (OSWALD, 1979).

Os BZPs estão entre as classes farmacológicas mais empregadas como indutora de sono no tratamento a curto prazo de insônia, por reduzirem a atividade e excitação do SNC produzindo um estado de sonolência (BALDWIN et al., 2013) além de alterarem a arquitetura do sono (POYARES et al., 2004). Essa classe de medicamentos, principalmente quando utilizada pela primeira vez, diminuem a latência para o início do sono e aumentam a duração do sono (WICKBOLDT et al., 2012).

O ácido gama-amino-butírico (GABA) é o principal neurotransmissor inibitório e está presente difusamente no SNC (MENDELSON, 2000). Aproximadamente 40% de todas as sinapses centrais são gabaérgicas e nas regiões anteriores do cérebro esse percentual pode chegar a 50% (STEPANSKI e ZORICK, 1991). Até o presente momento são conhecidos três tipos de receptores para o neurotransmissor GABA: os receptores GABA_A, GABA_B, GABA_C.

O GABA_A é o receptor pós-sináptico mais comum do SNC e o de maior relevância para os benzodiazepínicos (MENDELSON, 2000). É composto por cinco subunidades de glicoproteínas transmembrana, duas subunidades alfa (α), duas subunidades beta (β) e uma gama (γ), dispostos em torno de um centro do canal do íon cloreto (SIEGHART et al., 1999; BALDWIN et al., 2013). A ativação dos receptores GABA_A pelo neurotransmissor GABA produz uma alteração estrutural do

complexo supramolecular, gerando uma alteração da função dos canais de cloro (MENDELSON, 2000). Dessa forma, ocorre a abertura dos canais de cloro, aumentando o influxo celular desse íon e como consequência uma hiperpolarização da membrana celular com inibição rápida e imediata da membrana neuronal (MENDELSON, 2000).

Os benzodiazepínicos são moduladores alostéricos dos receptores GABA_A, que resultam em uma cooperatividade positiva aumentando a resposta biológica do GABA (BALDWIN et al., 2013). O efeito hipnótico é decorrente da ligação dos benzodiazepínicos na subunidade α_1 do receptor GABA_A, em áreas alvo das vias promotoras de sono (SZABADI, 2006). Essa interação promove uma mudança conformacional do receptor GABA_A, alterando a cinética de ligação dos neurotransmissores GABA, por aumentar a afinidade deste receptor pelo neurotransmissor GABA (HAEFELY, 1990). Portanto, a ativação GABAérgica induzida pelos agonistas GABAérgicos potencializam a atividade do neurotransmissor GABA, produzindo uma hiperexcitabilidade neuronal e como consequência uma inibição sináptica rápida (BALDWIN et al., 2013).

A qualidade do sono está relacionada a medidas objetivas como a continuidade do sono, latência, número de despertares noturnos e tempo acordado, além de medidas polissonográficas como eficiência e tempo total de sono (ALOÉ e SILVA, 2000). Segundo Stepanski e Zorick (1991), os hipnóticos melhoram as medidas polissonográficas do sono, dando a percepção ao paciente com insônia de um sono de melhor qualidade. Independente da estrutura química do benzodiazepínico utilizado, é observado que o seu uso a curto prazo altera a estrutura do sono, e como consequência as atividades observadas no eletroencefalograma (POYARES e TUFIK, 2003).

Os BZPs são hipnóticos conhecidos por ter a capacidade de alterar a estrutura do sono (POYARES et al., 2005). Estudos demonstram que os BZPs possuem diversos efeitos sobre o sono. Eles podem atuar na redução da latência para o início do sono, no aumento do tempo total de sono e na redução dos despertares (POYARES et al., 2005). Atuam na arquitetura anormal de pacientes com insônia, com aumento de estágio II do sono NREM, redução do sono de ondas lentas, aumento da latência para o sono REM, redução da densidade de movimentos oculares rápidos no sono REM e pouca ou nenhuma alteração na percentagem de sono REM (POYARES et al., 2005).

Atualmente existe no mercado diversos medicamentos da classe dos benzodiazepínicos disponíveis para o tratamento de insônia. Cada benzodiazepínico possui um perfil farmacocinético diferente e como consequência apresentam efeitos clínicos e colaterais distintos. Os benzodiazepínicos hipnóticos podem ser classificados de acordo com seu perfil farmacocinético. Baseado no tempo de meia vida podem apresentar meia vida longa (20 a 80 horas) como exemplo o fármaco diazepam (32 a 47 horas; meia vida intermediária (10 a 20 horas) e meia-vida curta (até quatro horas) como exemplo o fármaco midazolam (1,5 a 2,5 horas)(ALOÉ e SILVA, 2000; GAGE et al, 2014).

REFERÊNCIAS

- ADES, C. Por uma história natural da memória. *Psicologia USP*. v.4, n.1-2, p.25- 47, 1993.
- ALBERINI, C. M. The role of protein synthesis during the labile phases of memory: revisiting the skepticism. *Neurobiol Learn Mem*. v.89, p.234–246, 2008.
- ALOÉ, F., SILVA, A. D. Benzodiazepínicos no tratamento das insônias. *Moreira Junior*. p.376-389, 2000.
- ASERINSKY, E.; KLEITMAN, N. Regularly occurring periods of eye motility, and concomitant phenomena, during sleep. *Science*. v.118, p.273-4, 1953.
- BADDELEY, A. D. Memória humana. Teoria e prática. Mc. Graw Hill Editora Madrid; 1999.
- BAKER, T. I. Introduction to sleep disorders. *Med. Clin. North. Am*. v.69, p.1123-1152, 1990.
- BALDWIN, D. S, AITCHISON, K., BATESON, A. et al. Benzodiazepines: Risks and benefits. A reconsideration. *J Psychopharmacol*. v.27, p.967-971, 2013.
- BANKS, S., DINGES, D. F. Behavioral and physiological consequences of sleep restriction. *J. Clin. Sleep Med*. v.3, p.519-528, 2007.
- BARNES, C. A. Memory deficits associated with senescence: a neurophysiological and behavioral study in the rat. *J Comp Physiol Psychol*. v.93, p.74-104. 1979.
- BERGANTIM, R. F. C., GUERRA, M., FORTUNATO, J. S. Sono REM e ontogenese *Revista Portuguesa de Psicossomática*. v.5, n.2, p.127-139, 2003.
- BRADBURY, P. Histological Methods. In: *Hewer's Textbook of Histology for Medical Students*. 9th Ed. ELBS. p.431-450, 1992.
- BUELA, G. Avaliação dos distúrbios de iniciar e manter o sono. In: *Reimão R. Sono: aspectos atuais*, Rio de Janeiro: Atheneu Editora, 1990.
- CARSKADON, M. A., CARSKADON, W. C. D. Chapter 2 – Normal Human Sleep : Monitoring and staging human sleep. In *M.H. Kryger, T. Roth, & W.C. Dement (Eds.), Principles and practice of sleep medicine*, Elsevier Saunders, 5 ed. p.16-26, 2011.
- CARRILLO-MORA, P. Sistemas de memoria: reseña histórica, clasificación y conceptos actuales. *Salud Mental*, v.33, n.1, p. 85-93, 2010.
- COENEN, A. Where is the classic interference theory for sleep and memory? *Behavioral and Brain Sciences*. v.28, n.1, p.67-68, 2005.
- COENEN, A. A life full of sleep. *Sleep wake*. v. 18, p. 9-24, 2008.

COLAVITO, V.; FABENE, P. F.; GRASSI-ZUCCONI, G.; PIFFERI, F.; LAMBERTY, Y.; BENTIVOGLIO, M.; BERTINI, G. Experimental sleep deprivation as a tool to test memory deficits in rodents. *Front Syst Neurosci.* v.7, n.106, 2013.

DEMENT, W. C. The study of human sleep: a historical perspective. *Thorax.* v. 53, p. 2-7, 1998.

DIEKELMANN, S.; BORN, J. The memory function of sleep. *Nat Rev Neurosci,* v.11, p.114-126, 2010.

DOGHARAMJI, P. P. Treatment of insomnia with zaleplon, a novel sleep medication. *International Journal of Clinical Practice.* v.55, n.5, p.329-334, 2001.

FERNANDES, R. M. F. O sono normal. *Distúrbios respiratórios do sono.* v.39, n.2, p.157-168, 2006.

FISHBEIN W, KASTANIOTIS C, CHATTMAN D. Paradoxical sleep: prolonged augmentation following learning. *Brain Res.* v.79, p.61-75, 1974.

GAGE, S. B., MORIDE, Y., DUCRUET, T., et al., Benzodiazepine use and risk of Alzheimer's disease: case-control study. *BMJ,* 349:g5205, 2014.

GALLAGHER, M., BURWELL, R., BURCHINAL, M. Severity of spatial learning impairment in aging: development of a learning index for performance in the Morris water maze. *Behav. Neurosci.* v.107, p.618-626, 1993.

GALLISTEL, C. R. The organization of learning. Cambridge, MA: MIT Press, 1990.

GANHITO, N. C. P. *Distúrbios do sono.* Editora Casa do psicólogo. 245p, 2003.

GLOVELI, T. Hippocampal spatial navigation: interneurons take responsibility. *J Physiol.* v.588, p.4609–4610, 2010.

GOMES, M. M. Bases fisiológicas do eletroencefalograma. *Revista Brasileira de Neurologia,* v.51, n.1, p.12-17, 2015.

GRAVES, L. A.; HELLER, E. A.; PACK, A. I.; ABEL, T. Sleep deprivation selectively impairs memory consolidation for contextual fear conditioning. *Learning & Memory,* v.10, p.168–176, 2003.

GRAVES, L.; PACK, A.; ABEL, T. Sleep and memory: a molecular perspective. *Trends Neurosci,* v.24, p.237-243, 2001.

GREEN, J. D. The hippocampus. *Physiol. Rev.* v. 44, p. 561-608, 1964.

HAEFELY, W. E. The GABAA-benzodiazepine receptor: biology and pharmacology. In: BURROWS, G .D.; ROTH, R.; NOYES, J. R: *Handbook of anxiety, The Neurobiology of anxiety.* Elsevier Science Publishers, Amsterdam. v.3. p.165-188, 1990.

- HELMSTAEDER, C. L., ELGER, C. E. Cognitive consequences of two-thirds anterior temporal lobectomy on verbal memory in 144 patients: A three-month follow-up study. *Epilepsia*; v.37, n.2, p.171-180, 1996.
- IZQUIERDO, I. Memória. Porto Alegre, ArtMed Editora S.A. 2002.
- IZQUIERDO, I. Memórias. Estudos avançados. São Paulo. v.3, n.6, 1989.
- JINDAL, R. D., BUYSSE, D. J., THASE, M.E. Maintenance Treatment of Insomnia: What Can We Learn From the Depression Literature? *The American Journal of Psychiatry* v.161, n.1, p. 19-24, 2004
- KANDEL, E. R.; SCHWARTZ, J. H.; JESSELL, T. M.; et al. Fundamentos da Neurociência e Comportamento. Rio de Janeiro, RJ. Guanabara Koogan, 2002.
- KANDEL, E. R.; SCHWARTZ, J. H.; JESSELL, T. M.; et al. Fundamentos da Neurociência e Comportamento. Porto Alegre, RS. AMGH Editora LTDA, 2014.
- KIRKWOOD, C. K. "Management of insomnia". *J Am Pharm Assoc.* v.39, n.5, p.688–696, 1999.
- KRUEGUER, J. A.; Jr OBÁL, F.; FANG, J. Why we sleep: a theoretical view of sleep function. *Sleep Med Rev*, v.3, p.119-129, 1999.
- LANDEIRA-FERNANDEZ, J.; BRANDÃO, M. L. Disfunções minemônicas. Em: Marcus Brandão; Frederico Graeff. (Org). *Neurobiologia dos transtornos mentais*. Rio de Janeiro: Atheneu, p.222- 244, 2014.
- LAVIE P. The enchanted world of sleep. New Haven: Yale University Press, 1996.
- LENT, R. Cem Bilhões de Neurônios? Conceitos Fundamentais de Neurociência - 2ª edição. Atheneu, 2010.
- LOMBROSO, P. Aprendizado e memória. *Ver. Bras. Psiquiatr.* v.26, n.3, p. 207-210, 2004.
- LOOMIS, A. L., HARVEY E. N., HOBART, G. A. Cerebral states during sleep, as studied by human brain potentials. *J. exp. Psychoz.* v.21, p.127-144, 1937.
- LYZNICKI, J. M., DOEGE, T. C., DAVIS, R. M., WILLIAMS, M. A. Sleepiness, driving, and motor vehicle crashes. Council on Scientific Affairs, American Medical Association. *JAMA.* v.17, n.279, p.1908-1913, 1998.
- MACHADO, R.B.; HIPOLIDE D.C.; BENEDITO-SILVA A.A.; TUFIK S. Sleep deprivation induced by the modified multiple platform technique: quantification of sleep loss and recovery. *Brain Res.* v.1004, p.45–51, 2004.
- MARTINS, P. J. F.; MELLO, M. T.; TUFIK, S. Exercício e sono. *Ver Bras Med Esporte.* v.7, n.1, 28-36, 2001.

MARKOWITSCH, H. J., PRITZEL, M. The neuropathology of amnesia. *Progr. Neurobiol.* v.25, p.189-287, 1985.

McCALL, W. V. A psychiatric perspective on insomnia. *J Clin Psychiatry.* v.62, n.10, p.27-32, 2001.

McCARLEY R. W. Neurobiology of REM and NREM sleep. *Sleep Med.* v.8, p.302-330, 2007.

McCARTHY, M. E.; WATERS, W. F. Decreased attentional responsivity during sleep deprivation: orienting response latency, amplitude, and habituation. *Sleep*, v.20, p. 115-123, 1997.

McGOUGH, J. L. Time-dependent process in memory storage. *Science.* v.153, p.1351-1358, 1966.

McGOUGH, J. L. Memory – A century of consolidation. *Science.* v.287, p.248-251, 2000.

MAQUET, P.; DEGUELDRE, C.; DELFIORE, G.; AERTS, J.; PÉTERS, J. M.; et al. Functional neuroanatomy of human slow wave sleep. *J. Neurosci.* v.17, p. 2807-2812, 1997.

MAQUET, P. The role of sleep in learning and memory. *Science.* v.294, p.1048-1052, 2001.

MENDELSON, W. B.; GUTHRIE, R. D.; FREDERICK, G.; WYATT, R. J. The flower pot technique of rapid eye movement (REM) sleep deprivation. *Pharmacol. Biochem. Behav.* v.2, p.553–556, 1974.

MENDELSON, W. B. Hypnotics: Basic Mechanisms and Pharmacology. In: Kryger, M. H.; Roth.; Dement W.C. *Principles and Practice of Sleep Medicine.* 3rd edition. WB Saunders, Philadelphia, p. 407-414, 2000.

MENDELSON, W. B., ROTH, T., CASSELLA, J., ROEHRS, T., et al. The treatment of chronic insomnia: drug indications, chronic use and abuse liability. Summary of a 2001 New Clinical Drug Evaluation Unit meeting symposium. *Sleep Med Rev* v.8, n.1, p.7-17, 2004.

MORDEN, B.; MITCHELL, G.; DEMENT W. Selective REM sleep deprivation and compensation phenomena in the rat. *Brain Res.* v.5, p.339–349, 1967.

MORIN, C. M. *Insomnia: Psychological Assessment and management.* New York, The Guilford Press, 1993.

MORIN, C. M.; CULBERT, J. P., SCHWARTZ, S. M. Nonpharmacological interventions for insomnia: a meta-analysis of treatment efficacy. *Am. J. Psychiatry*, v.151, p.1172-1180, 1994.

MORIN, C. M.; BASTIEN, C.; GUAY, B.; RADOUCO-THOMAS, M.; LEBLANC, J.; et al. Randomized clinical trial of supervised tapering and cognitive behavior therapy to facilitate benzodiazepine discontinuation in older adults with chronic insomnia. *Am J Psychiatry*. v.161, p.332-342, 2004.

MORRIS, R. G. Spatial localization does not require the presence of local cues, *Learn. Motiv.* v.12, p.239-260, 1981.

MORRIS, R. G.; GARRUD, P.; RAWLINS, J. N.; O'KEEFE, J. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature*. v.297, p.681-683, 1982.

NHLBI - National Heart, Lung and Blood Institute Working Group on Insomnia: assessment and management in primary care. *Am. Fam. Physician*. v.59, p. 3029-3038, 1999.

NIMHCDC - National Institute of Mental Health, Consensus Development Conference: Drugs and Insomnia: The use of medications to promote sleep. *JAMA*, v.251, p.2410, 1984.

NUNES, M. L.; CAVALCANTE, V. Avaliação clínica e manejo da insônia em pacientes pediátricos. *Jornal de Pediatria*, v.81, p.277-286, 2005.

OHAYON, M. M., Epidemiology of insomnia: what we know and what we still need to learn. *Sleep Med Rev* v.6, n.2, p.97-111, 2002.

O'KEEFE, J., NADEL, I. *The Hippocampus as a Cognitive Map*. Oxford University Press, 1978.

OLTON, D. S., SAMUELSON, R. J. Remembrance of place passed. Spatial memory in rats. *J Exp Psychol: Anim Behav Process*. v.2, p.97-116, 1976.

OSWALD, I. The why and how of hypnotic drugs. *Br. Med. J.* v.1, p.1167-1168, 1979.

PACE-SCHOTT, E. F.; HOBSON, J. A. The neurobiology of sleep: genetics, cellular physiology and subcortical networks. *Nat. Rev. Neurosci.* v.3, p.591-605, 2002.

PASSOS, G. S.; TUFIK, S.; SANTANA, M. G.; POYARES, D.; MELLO, M. T. Tratamento não farmacológico para a insônia crônica. *Rev. Bras, Psiquiatr.* v.29, n.3, 2007.

PIRES, M. I., BENEDITO-SILVA, A. A., MELLO, M. T., et al. Sleep habits and complaints of adults in the city of São Paulo, Brazil, in 1987 e 1995. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. v. 40, 1505-1515, p.2007.

PORTUGUEZ, M. W. Avaliação Pré Cirúrgica do Lobo Temporal: Linguagem e Memória. In: DA COSTA C. J., PALMINI A, YACUBIAN E. M., CAVALHEIRO E. *Fundamentos Neurobiológicos das Epilepsias: Aspectos Clínicos E Cirúrgicos*: Lemos Editorial; São Paulo, v.2, p.939- 56, 1998

POYARES, D.; GUILLEMINAULT, C.; OHAYON, M. M.; TUFIK, S. Chronic benzodiazepine usage and withdrawal in insomnia patients. *Journal of Psychiatric Research*. v.38, p.327-334, 2004.

POYARES, D, TUFIK, S. coordenadores, I Consenso brasileiro de insônia. *Hypnos*. v.4, p.5- 39, 2003.

POYARES, D.; PINTO, J. L.; TAVARES, S.; BARROS-VIEIRA S. Hipnoindutores e insônia. *Rev Bras Psiquiatr*. v. 27, p.2-7, 2005.

PRIEST, R. G. Sleep and its disorders. In *Current Themes in Psychiatry*, eds Gaind R.G. & Hudson, Barbara, p. 83-93, 1978.

RECHTSCHAFFEN, A. Current perspectives on the function of sleep. *Perspect. Biol. Med*. v.41, p. 359-390, 1998.

RECHTSCHAFFEN, A. BERGMANN, B.M. Sleep deprivation in the rat by the disk over-water method, *Behav Brain Res*. v.69, p.55-63, 1995.

RECHTSCHAFFEN, A., KALES, A. A manual of standardized terminology, techniques, and scoring system for sleep stages of human subjects. Washington: U.S. Government Printing office, 1968.

REVEL, F. G.; GOTTOWIK, J.; GATTI, S.; WETTSTEIN, J. G.; MOREAU, J. L. Rodent models of insomnia: a review of experimental procedures that induce sleep disturbances. *Neurosci. Biobehav. Rev*. v.33, p.874–899, 2009.

MORRIS, R. G. M. Spatial localization does not require the presence of local cues. *Learning and Motivation*, v. 12, p.239-260, 1981.

RIEMANN, D.; PERLIS, M. L. The treatments of chronic insomnia: A review of benzodiazepine receptor agonists and psychological and behavioral therapies. *Sleep Medicine*. v.13, p.205-214, 2009.

SARAIVA, E. M.; FORTUNADO, J. M. S.; GAVINA, C. Oscilações do cortisol na depressão e sono/vigília. *Revista Portuguesa de Psicossomática*, v.7, n.2, 2005.

SCHENCK, C. H., MAHOWALD, M. W., SACK, R. L. Assessment and Management of Insomnia *JAMA The Journal of the American Medical Association*. v.289, n.19, p.2475-2479, 2003.

SCHUTTE-RODIN, S.; BROCH, L.; BUYSSE, D. et al. Clinical Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Insomnia in Adults. *J. Clin Sleep Med*. v.15, n. 4, p.487–504, 2008.

SCOVILLE, W. B.; MILNER, B.. Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. v.20, p.11–21, 1957.

SIEGEL, J. M. The REM sleep-memory consolidation hypothesis. *Science*. v.294, p.1058-161, 2001.

SIEGHART, W.; FUCHS, K.; TRETTER, V.; EBERT, V.; JECHLINGER, M.; HOGER, H.; ADAMIKER, D. Structure and subunit composition of GABAA receptors. *Neurochemistry International*, v.34, n.5, p.379-385, 1999.

SILBER, M. H., ANCOLI-ISRAEL, S., BONNET, M. H., CHOKROVERTY S, GRIGG-DAMBERGER, M. M., et al. The Visual Scoring of Sleep in Adults. *J Clin Sleep Med*; v.3, n.2, p.121-131, 2007.

SILVA JUNIOR, J. A. C. Ideias gerais sobre a eletrencefalografia. *Arq. Neuro-Psiquiatr.* v.3, n.2, 1945.

SMITH C, BUTLER S. Paradoxical sleep at selective times following training is necessary for learning. *Physiol Behav.* v.29, p.469-73, 1982.

SMITH, C., ROSE, G. M. Evidence for a paradoxal sleep window for place learning in the Morris water maze. *Physiol. Behav.* v. 59, p. 93-97, 1996.

SOUZA, J. C.; REIMAO, R. Epidemiologia da insônia. *Psicologia em Estudo*, Maringá, v.9, n.1, p.3-7, 2004.

SOUZA, A. B., SALGADO, T. D. M. Memória, aprendizagem, emoções e inteligência. *Revista Liberato.* v.16, n.26, p.141–151, 2015.

SQUIRE, L. R. Memory and the hippocampus: a synthesis from findings in rats, monkeys and humans. *Psychol Rev.* v.99, p.195–231, 1992.

STEPANSKI, E.; ZORICK, F.; ROTH T. Pharmacotherapy of Insomnia. In: Hauri, P.J. *Case Studies in Insomnia*. New York, NY. Plenum Publishing; p.115-129, 1991.

STERIADE, M., NUNEZ, A., AMZICA, F. Intracellular Analysis of Relations between the Slow (< 1 Hz) Neocortical Oscillation and other sleep rhythms of the Electroencephalogram. *The Journal of Neuroscience*, v.13, n.8, p. 3266-3283, 1993.

STERIADE, M.; McCARLEY, R. W., *Brain control of wakefulness and sleep*, Springer US, 2010

STERIADE, M.; TIMOFEEV, I. Neuronal plasticity in thalamocortical networks during sleep and waking oscillations. *Neuron.* v.37, p.563–576, 2003.

STICKGOLD, R.; SCOTT, L.; RITTENHOUSE, C., HOBSON, J. A. Sleep-induced changes in associative memory. *J. Cogn. Neurosci.* v.11, p.182-193, 1999.

STICKGOLD, R.; WHIDBEE, D.; SCHIRMER, B.; PATEL, V.; HOBSON, J. A. Visual discrimination task improvement: A multi-step process occurring during sleep. *J. Cogn. Neurosci.* v.12. p.246-254, 2000.

STICKGOLD, R.; HOBSON, J. A.; FOSSE, R.; FOSSE, M. Sleep, learning and dreams: Off-line memory reprocessing. *Science.* v.294, p.1052-1057, 2001.

STICKGOLD, R. Sleep-dependent memory consolidation. *Nature*. v.437, p.1272-1278, 2005.

SUCHECKI, D.; LOBO, L. L.; HIPÓLIDE, D. C.; TUFIK, S. Increased ACTH and corticosterone secretion induced by different methods of paradoxical sleep deprivation. *J Sleep Res*, v.7, p.276-281, 1998.

SUMMERS-BREMNER, E. *Insomnia: A Cultural History Hardcover*. Reaktion books Ltd 2007.

SZABADI, E. Drugs for sleep disorders: mechanisms and therapeutic prospects. *Br J Clin Pharmacol*. v.61, n.6, p.761–766, 2006.

TIMO-IARIA, C.; NEGRÃO, N.; SCHIMIDEK, W. R.; et al. Phases and states of sleep in the rat. *Physiology and Behavior*. v.5, p.1057-1062, 1970.

TIMO-IARIA, C. O sono. *Ciência Hoje*. v.4, p.66-76. 1985.

TIMO-IARIA, C. Evolução histórica do estudo do Sono. In: TUFIK, S. *Medicina e Biologia do Sono*. São Paulo, Manole, 483p, 2008.

VALLE, L.E.L.R; VALLE, E. L. R; REIMÃO, R. Sono e Aprendizagem. *Rev. Psicopedagogia*. v.26, n.80, p.286-290, 2009;

VAN HULZEN, Z. J.; COENEN, A. M. Paradoxical sleep deprivation and locomotor activity in rats. *Physiol. Behav*. v.27, p.741–744, 1981.

XAVIER, G. F. A modularidade da memória e o sistema nervoso. *Psicologia-USP*, v.4, p.61-115, 1993.

WALKER, M. P.; BRAKEFIELD, T.; HOBSON, J. A.; STICKGOLD, R. Dissociable stages of human memory consolidation and reconsolidation. *Nature*, v.425, p. 616-620, 2003.

WENK, G. L. Assessment of spatial memory using radial arm and Morris water mazes, in: J. CRAWLEY, C. GERFEN, R. MCKAY, M. ROGAWSKI, D. SIBLEY, P. SKOLNICK, *Current Protocols in Neuroscience*, Wiley, New York 1998.

WICKBOLDT, A. T.; BOWEN, A. F.; KAYE, A. J. et al. Sleep Physiology, Abnormal States, and Therapeutic Interventions. *The Ochsner Journal: Summer*. v. 12, n. 2, p. 122-134, 2012.

4 CAPITULO 2 - EFEITO DOS BENZODIAZEPÍNICOS DIAZEPAM E MIDAZOLAM NA MEMÓRIA ESPACIAL E MORFOLOGIA DE HIPOCAMPO DE RATOS WISTAR SUBMETIDOS À PRIVAÇÃO DE SONO

4.1 INTRODUÇÃO

O *Homo sapiens* é uma espécie caracterizada como diurna adaptada a exercer suas atividades na fase clara, estando o período escuro destinado ao sono (MARTINEZ et al., 2008). Entretanto, o padrão de sono da nossa espécie tem mudado nos últimos 250 anos devido às atribuições da era moderna surgidas principalmente após a revolução industrial. Com o advento das manufaturas e a rápida expansão da economia, as cargas horárias dos trabalhadores foram aumentadas e os trabalhos em turnos alternados ou não habituais foram inseridos para aumentar a produtividade. Juntamente com a revolução industrial houve também a descoberta da luz artificial, que ampliou os horários de atividades do ser humano, aumentando assim o tempo destinado à vigília (TUFIK, 2008).

Devido à demanda cada vez maior de exigências na rotina diária voltada às pressões socioeconômicas e as necessidades sociais como estudos e lazer, houve uma diminuição do período destinado ao sono, interferindo no ciclo sono-vigília natural da espécie humana. Dessa forma, é observado um contraste entre os hábitos de sono da população atual quando comparado com os hábitos apresentados pela população na era pré-industrial, colocando em risco a homeostase do organismo e podendo ser um possível fator causador de inúmeros distúrbios deletérios a saúde (FOSTER e WULFF, 2005).

O sono é um estado comportamental natural de fundamental importância para a manutenção fisiológica do organismo que ocorre em diversas espécies do reino animal. Esse estado requer uma integração cerebral complexa de diversos processos biológicos (BORBÉLY e ACHERMANN, 1999). Ocorre em diversas fases consecutivas que se repetem ciclicamente, alternando-se ritmicamente com o estado de vigília, podendo variar entre as espécies animais (RECHTSCHAFFEN e KALES, 1968). O déficit de sono pode determinar uma má qualidade no desempenho, interferências negativas na saúde e em casos mais graves pode representar risco de morte (KUPPERMANN et al., 1995; EBERHART et al., 2000).

A insônia é um problema de saúde pública com alta prevalência na população mundial, em que poucas pessoas são tratadas, principalmente por desconsiderar a insônia como um problema de saúde grave (NIMHCDC, 1984). O tratamento da insônia pode ser realizado por meio de intervenções farmacológicas, não-farmacológicas e psicológicas (MORIN, 1993; MORIN et al., 1994). Dentre as classes farmacológicas mais utilizadas para o tratamento da insônia destacam-se os benzodiazepínicos, que atuam alterando a arquitetura do sono (POYARES et al., 2004).

O sono humano é o interesse final dos pesquisadores que estudam sono (TIMO-IARIA, 2008). Apesar das variações homeostáticas, circadianas e neuroquímicas entre as espécies, existe uma equivalência entre o padrão das fases de sono observada em roedores e humanos, demonstrando que o sono permanece essencialmente similar nessas espécies (TIMO-IARIA et al., 1970; REVEL et al., 2009). Estudos apontam que a privação de sono tem interferência negativa na memória de humanos e roedores (BORBÉLY e ACHERMANN, 1999). Dessa forma, aliada a dificuldade na padronização de humanos em pesquisa de insônia, justifica-se o uso de modelos animais como roedores em estudos de privação de sono, para avaliar os diversos fatores que podem afetar o sono. Nesse contexto, esse estudo teve como objetivo elucidar parte dos efeitos dos benzodiazepínicos diazepam e midazolam sobre a memória espacial e morfologia do hipocampo de *Rattus norvegicus albinus* variedade Wistar sob o protocolo de privação de sono.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

A proposta para a execução do presente trabalho e os procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética para Uso de Animais da Universidade Federal do Paraná setor Palotina sob protocolo n. 30/2016.

4.2.1 Animais

Foram utilizados 31 ratos da espécie *Rattus norvegicus albinus*, variedade Wistar, 15 fêmeas e 16 machos, com 45 dias de vida e peso corporal entre 80 e 115 g ($98,95 \pm 8,84$). Os ratos foram provenientes e alojados no Biotério Experimental de Roedores da UFPR Setor Palotina onde foram mantidos durante todo o período experimental.

4.2.2 Condições experimentais

Durante o período de adaptação foram alojados de três a cinco ratos por caixas de polipropileno (40 x 30 x 20 cm) forradas com maravalha, trocada duas vezes por semana. Os ratos receberam ração peletizada apropriada para roedores e água *ad libitum*, e foram identificados individualmente com solução aquosa de ácido pícrico saturada.

Os ratos passaram por um período de adaptação às condições ambientais e de manejo 15 dias antes do início das atividades. Foram expostos às condições de climatização à temperatura de 22°C em sala de 10m² com períodos claro de 12 horas sob luz artificial (07h00min às 19h00min). Durante todo o período experimental, os ratos foram manipulados pela mesma equipe de trabalho.

4.2.3 Tratamentos

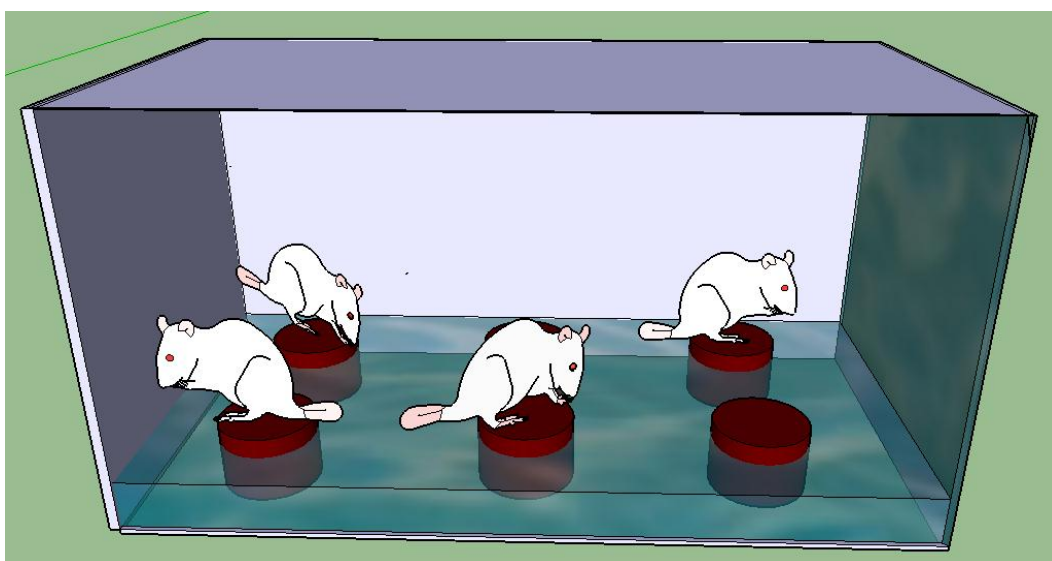
Foram formados quatro grupos experimentais, a saber: grupo controle (GC, n=7), solução salina (GS, n=8), diazepam (GD, n = 8) e midazolam (GM, n=8). Os ratos do grupo GC seguiram sua rotina de sono regular, enquanto os animais de GS, GD e GM foram submetidos a 48 horas de insônia uma vez por semana nos dias D0,

D7, D14 e D21 do estudo. Finalizado o período de insônia, tais ratos receberam administração intraperitoneal de fármacos conforme seu grupo experimental: GS - 0,5mL NaCl 0,9%; GD – 2mg/Kg de diazepam; GM - 1mg/Kg de midazolam.

4.2.4 Privação de sono

Para a privação de sono utilizou-se a metodologia da plataforma múltipla modificada. Para tanto, foram empregadas caixas organizadoras de plástico transparente (68 x 45 x 47 cm). Em seu interior foram colocadas plataformas metálicas circulares com 6 cm de altura e 6,3 cm de diâmetro, em número correspondente ao número de ratos mais 50%, permitindo que se movimentassem de uma plataforma para outra (FIGURA 1). A caixa foi preenchida com água até 1 cm abaixo do topo da plataforma e foram fechadas com suas respectivas tampas dotadas de diversas perfurações para permitir a troca de ar. Em cada caixa de teste foram colocados ratos criados juntos desde o desmame provenientes de uma mesma gaiola-moradia.

FIGURA 1 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA PLATAFORMA MÚLTIPLA MODIFICADA UTILIZADA PARA A PRIVAÇÃO DE SONO EM RATOS WISTAR DEMONSTRANDO A DISPOSIÇÃO DAS PLATAFORMAS CIRCULARES DISPOSTAS NO TANQUE PREENCHIDO COM ÁGUA



FONTE: O autor (2016).

O período de privação de sono iniciou às 19 horas do primeiro dia do experimento (D0) e teve duração 48 horas. Durante as 48 horas de privação foram mantidas a iluminação artificial da sala com luz fluorescente.

Ao término do período de privação de sono os ratos receberam o tratamento específico para o grupo que pertenciam, e foram diretamente transferidos para a gaiola-moradia onde permaneceram até 12 horas antes do teste de memória (D3 e D24).

4.2.5 Teste de memória

Na primeira e quarta semana (D3 e D24), 12 horas após o término período de privação de sono dos grupos, os ratos dos grupos GS, GD, GM foram submetidos ao teste de memória espacial. Adicionalmente, este teste foi repetido em D38 sem prévia privação de sono.

Para o teste de memória espacial os ratos foram submetidos ao teste do labirinto aquático de Morris. Para tanto, foi utilizado um protótipo do labirinto aquático de Morris. Cada animal foi individualmente colocado em uma piscina circular de fibra de vidro de 150 cm de diâmetro, 50 cm de altura e com 30 cm de água aquecida (26°C). Uma plataforma de acrílico transparente de 13 cm de diâmetro foi colocada em um ponto fixo em um dos quadrantes e mantida imersa a 1 cm da superfície da água em todas as seções de treino e teste final. Para evitar a visualização da plataforma sob a água foi acrescentado leite em pó a piscina para tornar a água turva. Ao lado da piscina foram dispostas figuras geométricas com cores diferentes permitindo o mapeamento espacial do ambiente pelo animal. Além disso, os avaliadores se mantiveram na mesma posição durante todos os testes. (FIGURA 2).

FIGURA 2 - LABIRINTO AQUÁTICO DE MORRIS FORMADO POR UMA PISCINA DE FIBRA DE VIDRO, COM ÁGUA TURVA E FIGURAS GEOMÉTRICAS COM CORES DIFERENTES DISPOSTAS ALTERNADAMENTE EM QUATRO QUADRANTES PARA FACILITAR A LOCALIZAÇÃO DOS RATOS NO ESPAÇO



FONTE: O autor (2016).

Cada dia experimental (D3, D24, D38) foi constituído por quatro sessões de treino e um teste final. Em um mesmo dia experimental cada rato passou por quatro sessões de treino de 60 segundos cada, com intervalo de 20 minutos entre as tentativas. O teste final foi realizado 20 minutos após o último treino com duração de 60 segundos. Durante os treinamentos os ratos foram colocados labirinto aquático de Morris com a cabeça voltada para a parede da piscina em um dos quadrantes. O quadrante em que se colocava o rato era alterado a cada sessão, sendo mantida a mesma posição de soltura para todos os animais em todos os grupos experimentais. A plataforma foi mantida sempre na mesma posição durante todos os dias experimentais.

O registro do tempo iniciava-se no momento em que o rato era liberado na piscina. O sistema de registro era desligado quando o mesmo encontrava a plataforma de refúgio submersa. Após o encontro era permitido que o rato permanecesse na plataforma por cerca de 10 segundos. Em seguida o rato era retirado pelo experimentador, limpo e colocado de volta em sua gaiola-moradia. Quando o rato não encontrava a plataforma no período de 60 segundos (duração máxima de cada tentativa), o mesmo era colocado com o auxílio do experimentador

na plataforma, e permanecia por um período de 10 segundos. Após o término desse período o rato era transferido para sua gaiola-moradia, em que esperava até a próxima tentativa.

A piscina foi dividida por uma linha imaginária em quatro quadrantes de mesma área. Realizou-se o registro do tempo em que o rato levou para chegar à plataforma (em segundos) e o tempo que o animal permaneceu no quadrante onde estava a plataforma (em segundos).

4.2.6 Coleta do Hipocampo

Ao final dos testes de memória espacial foi realizada eutanásia dos ratos por meio de overdose de isoflurano. A confirmação da morte deu-se a partir da ausência de batimentos cardíacos.

Os encéfalos foram coletados e fixados durante um período mínimo de 24 horas em formol tamponado a 10% para realização das análises histopatológicas. Posteriormente, foram realizados cortes sagitais em intervalos de 2 mm a partir de um corte inicial próximo aos corpos mamilares. Os cortes foram encaminhados para histologia rotineira de inclusão em parafina. As secções foram obtidas com a utilização do micrótomo e posteriormente coradas pelo método hematoxilina-eosina (HE) segundo Luna (1968). A leitura das lâminas foi realizada com auxílio de um microscópio óptico em um aumento de 4, 10, 20 e 40 vezes.

4.2.7 Análise Estatística

Os dados coletados no LAM foram submetidos à análise estatística por meio da Análise de Variância (ANOVA) seguido por Tukey. Para tanto, foi utilizado o programa computacional SigmaStat for Windows® Version 3.0., SPSS Inc., Chicago, Illinois, Estados Unidos para realização dos testes estatísticos. Os valores obtidos na análise estatística foram expressos como média \pm desvio padrão da média, e foram considerados significativos quando $p < 0,05$.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se uma diminuição do tempo para o encontro da plataforma (TABELA 1) e mudança significativa no tempo de permanência no quadrante referente a plataforma (TABELA 2) no teste de memória espacial realizado no LAM. Os três grupos experimentais (GS, GD e GM) melhoraram o desempenho na tarefa de acordo com experiências prévias ao longo do período experimental (D3, D24, D38), apresentando maior tempo (em segundos) no primeiro dia de treino (D3), e menor tempo (em segundos) no último dia de treino (D38). Esses resultados são condizentes com a literatura na qual verifica-se que os ratos encontram de forma mais eficiente a plataforma submersa nos testes subsequentes, demonstrada pela redução do tempo em se encontrar a plataforma (MORRIS et al., 1982; VORHHES e WILLIAMS, 2006).

TABELA 1 - VALORES (MÉDIA \pm DESVIO PADRÃO) RELATIVOS AO TEMPO (EM SEGUNDOS) QUE RATOS WISTAR TRATADOS COM NACL 0,9% (GS), DIAZEPAM (GD) OU MIDAZOLAM (GM) LEVARAM PARA ENCONTRAR A PLATAFORMA SUBMERSA NO LABIRINTO AQUÁTICO DE MORRIS

Tempo	Tratamento			P
	GS	GD	GM	
D3	46,93 \pm 24,25 ^A	44,93 \pm 19,41 ^A	50,82 \pm 19,30 ^A	0,100
D24	30,38 \pm 22,42 ^A	23,84 \pm 19,88 ^A	35,17 \pm 19,55 ^A	0,760
D38	10,98 \pm 7,82 ^B	16,26 \pm 18,89 ^A	29,67 \pm 22,43 ^A	0,211
p	0,033	0,085	0,142	

A, B - Letras maiúsculas diferentes nas colunas indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ($p < 0,05$); Letras iguais não diferem entre si significativamente.

FONTE: O autor (2016).

TABELA 2 - VALORES (MÉDIA \pm DESVIO PADRÃO) RELATIVOS AO TEMPO (EM SEGUNDOS) QUE RATOS WISTAR TRATADOS COM NACL 0,9% (GS), DIAZEPAM (GD) OU MIDAZOLAM (GM) PERMANECERAM NO QUADRANTE EM QUE ESTAVA LOCALIZADA A PLATAFORMA SUBMERSA NO LABIRINTO AQUÁTICO DE MORRIS

Tempo	Tratamento			P
	GS	GD	GM	
D3	25,04 \pm 17,10 ^A	25,59 \pm 16,39 ^A	19,08 \pm 17,33 ^A	0,449
D24	44,48 \pm 16,26 ^A	40,06 \pm 19,83 ^A	36,14 \pm 14,76 ^A	0,594
D38	53,65 \pm 5,42 ^B	49,96 \pm 14,02 ^B	37,10 \pm 21,82 ^A	0,059
P	0,010	0,046	0,212	

A, B - Letras maiúsculas diferentes nas colunas indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ($p < 0,05$); Letras iguais não diferem entre si significativamente

FONTE: O autor (2016).

Somente foram observadas diferenças estatísticas no grupo GS para as duas variáveis (avaliação da plataforma/quadrante). Na avaliação do tempo para se encontrar a plataforma verificou-se que houve diferença estatística ($p = 0,033$) para o grupo GS comparando-se os tempos D3 e D38. Em D3 foi observada maior latência em segundos para os ratos acharem a plataforma de fuga submersa, e em D38 menor latência em segundos para se encontrar a plataforma. Demonstrando que ratos treinados no LAM exibem acentuado aprendizado expressos pela menor latência em se encontrar a plataforma submersa (MORRIS et al., 1982). Para esse mesmo grupo (GS) foi observada diferença estatística no tempo que passaram no quadrante em que se encontrava a plataforma. Os ratos permaneceram maior tempo no quadrante em que se encontrava a plataforma em D38 do que no primeiro dia de teste em D3. Também foi observada diferença estatística para o grupo GD no que se refere à avaliação do tempo que permaneceram no quadrante alvo, apresentando maior tempo em D38 e menor tempo em D3 (TABELA 2). Esses resultados evidenciam que os ratos conseguiram valer de suas experiências prévias nos testes de memória espacial encontrando a plataforma submersa com menor tempo em segundos, além de demonstrar maior preferência pelo quadrante referente ao local da plataforma corroborando com o fato de que os ratos utilizaram-se de suas experiências prévias no teste resultantes da aquisição de tarefa de navegação espacial (VORHHES e WILLIAMS, 2006).

Apesar de todos os grupos (GD, GM e GS) terem exibido capacidade de aprendizagem ao longo dos testes, observou-se que houve diferença comportamental (demonstrada pelo maior tempo em se encontrar a plataforma e menor tempo no quadrante alvo) quando comparado os grupos que receberam benzodiazepínicos (GD e GM) e o grupo que recebeu solução salina (GS). Ainda que tenha sido observada melhora no tempo de latência para se encontrar a plataforma, não houve diferença no encontro da plataforma comparando-se os tempos nos grupos diazepam e midazolam. Dessa forma, os resultados sugerem que a administração dos benzodiazepínicos diazepam e midazolam interferiu negativamente na aquisição da memória espacial e como consequência no desempenho da tarefa no LAM. Esse prejuízo na memória espacial pode ser justificado pelo fato que o uso de benzodiazepínicos pode induzir amnésia anterógrada em animais, independente da via de administração (GRAEFF e GUIMARÃES, 1999; IZQUIERDO e MEDINA, 1997), em que o início, duração e

magnitude da amnésia variam conforme o composto utilizado (CURRAM, 1981; POMPEIA e GOREINSTEIN, 1999) e a dose administrada (CURRAM, 1981; HOBBS et al., 1996).

Os benzodiazepínicos são amplamente utilizados para o tratamento de distúrbios de ansiedade e distúrbios de sono como a insônia (EMA, 1994; HOGAN et al., 2005). Entretanto, é conhecido que essa classe de medicamentos possui efeitos secundários indesejáveis, como a presença de déficits cognitivos e perda de memória em humanos (LISTER, 1985; POMPEIA e GOREINSTEIN, 1999; LONGO e JOHNSON, 2000; BUFFETT-JERROTT e STERWART, 2002), animais de companhia (PADDLEFORD, 2001; FANTONI et al., 2002), e prejuízo no desempenho no teste do LAM em ratos (ZANOTTI, 1994; SAVIC, 2009).

Embora bem documentados, os mecanismos envolvidos na perda da memória ainda são pouco conhecidos (McNAMARA, 1993). Tem sido proposto que o principal mecanismo que produza esse efeito possa estar relacionado com a potenciação de longa duração (LTP), mecanismo pelo qual a informação é armazenada no SNC de mamíferos (BLISS e COLLINGRIDGE, 1993; McNAMARA, 1993), além da participação da ansiedade no processamento das informações (LADER & PETURSSON, 1981; BERTRAND et al., 2000; IZQUIERDO, 2002).

A amnésia decorrente do uso de benzodiazepínicos pode estar relacionada com a diminuição da ansiedade promovidas por essa classe de medicamentos (SILVA e FRUSSA-FILHO, 2000). As interações memória-emoção ocorrem em vários estágios de processamento de informações, desde a codificação inicial e consolidação de traços de memória até a sua recuperação a longo prazo (LABAR e CABEZA, 2006). A intensidade e duração da memória são determinadas pela importância da informação, estado de atenção e ansiedade envolvidas durante sua aquisição (IZQUIERDO, 2002), assim como a modulação das fases iniciais de formação e evocação da memória (QUEVEDO et al., 2003). Estudos demonstram que memória pode ser modulada pela administração de medicamentos que atuem na neurotransmissão GABAérgica (CASTELLANO et al., 1990), em que a administração de antagonistas do neurotransmissor GABA facilitam a memória (IZQUIERDO e MEDINA, 1991), e agonistas prejudicam a memória, sugerindo que a formação da memória seria proporcional ao nível de ansiedade (IZQUIERDO e MEDINA, 1991). Tais efeitos podem ocorrer em doses únicas, e são proporcionais às doses administradas (GREENBLATT, 1992) e estão relacionadas as

propriedades sedativas dessa classe que perduram até por várias horas após a administração (BERNIK, 1999).

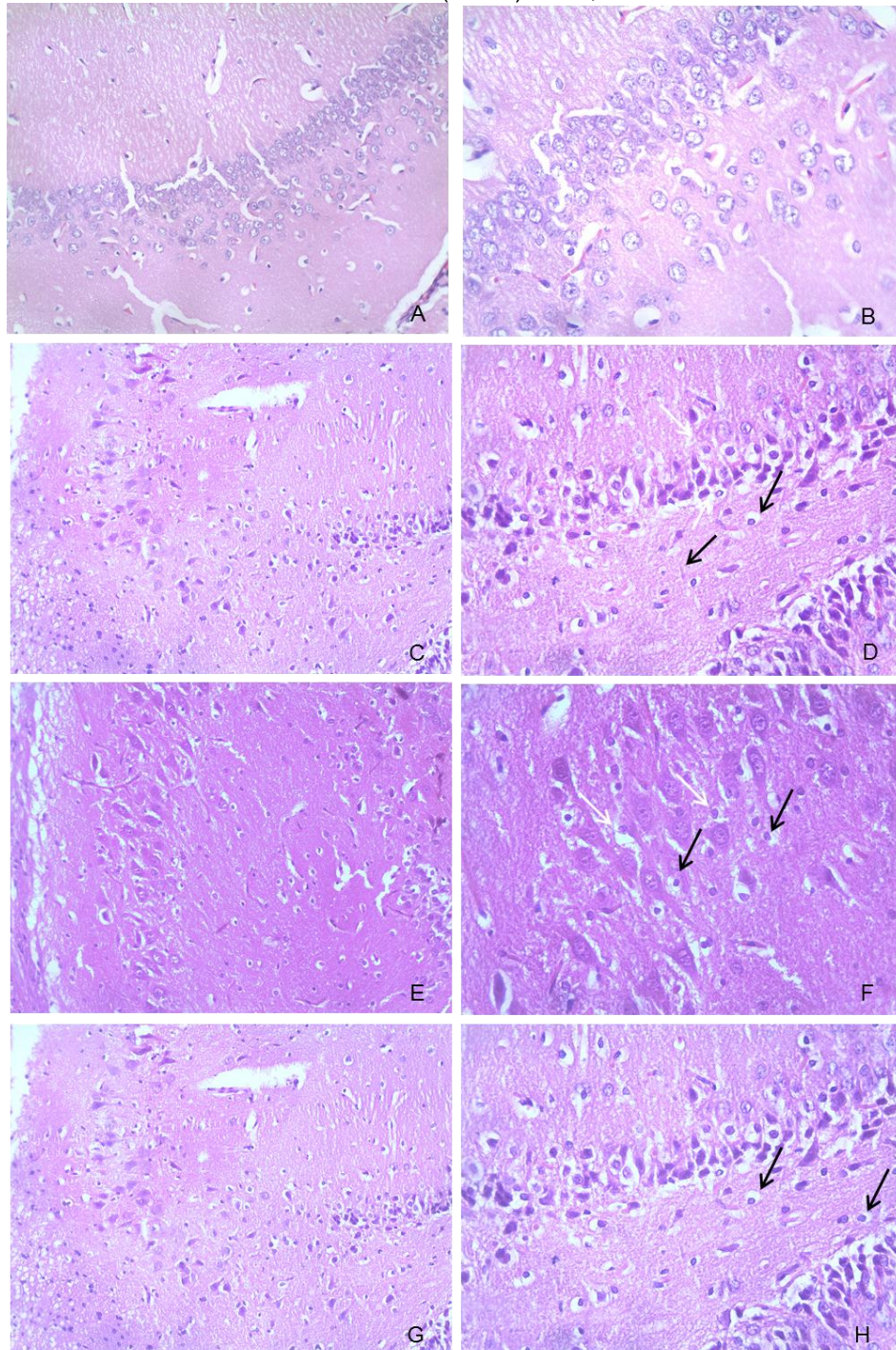
Porém, os efeitos amnésicos dos benzodiazepínicos vão além da redução do estado de alerta e parecem resultar de alterações no SNC (POMPEIA e GOREINSTEIN, 1999). O GABA é o principal e mais abundante neurotransmissor encontrado no SNC e está associado a emoções e memória (BRIONI, 1993; IZQUIERDO, 1992; TOMAZ, 1993; KORPI et al., 2002; RUDOLPH e MOHLER, 2004). Ele possui a capacidade de modular a memória através da potenciação de longa duração (LTP) no hipocampo, sendo a provável base celular do aprendizado e da memória (BLISS e COLLINGRIDGE, 1993; JEFERRY e MORRIS, 1993). A estimulação da modulação GABAérgica por benzodiazepínicos pode bloquear a LTP no hipocampo (DEL CERRO et al., 1992; XIAO-DONG HU et al., 2006), principalmente por atuar reduzindo a potenciação de saídas sinápticas extracelulares, o que poderia explicar em parte a capacidade dos benzodiazepínicos perturbar a formação da memória (EVANS e VIOLA-McCABE, 1996).

Apesar de não ter apresentado diferença estatística para a avaliação da plataforma foi possível observar que o grupo GD apresentou melhores resultados referentes a latência para se encontrar a plataforma submersa no labirinto aquático de Morris do que GM. Isso pode ser explicado pelo fato de que a magnitude e duração da amnésia variam de acordo com o cada composto benzodiazepínico utilizado (GRAEFF e GUIMARÃES, 1999). O midazolam é um hipnótico benzodiazepínico que pode apresentar insônia rebote no processo de retirada, pois além de aumentar a afinidade do GABA com seu receptor, atua interferindo na recaptação do GABA, aumentando seu efeito inibitório tornando-o um hipnótico mais potente que o diazepam (GRIFFIN et al., 2013).

As análises das secções de hipocampo coradas com HE sugerem que não houve alterações decorrentes da administração dos benzodiazepínicos e da privação de sono. A Figura 3A e 3B demonstra um corte histológico de hipocampo de rato Wistar do grupo GD sem alterações histopatológicas, demonstrando um arranjo normal dos neurônios no hipocampo. As Figuras 3D, 3F, 3H demonstram as alterações histopatológicas do hipocampo de ratos Wistar adultos dos grupos GS, GD e GC respectivamente em aumento de 40x. Nesse estudo foi observada a presença de astrócitos (células relacionadas à regeneração no sistema nervoso) em apenas um animal do grupo GS, GD e GC respectivamente. Os demais ratos dos

grupos GS, GD e GC e do grupo GM não apresentaram alterações histopatológicas. Dessa forma, sugere-se que as alterações encontradas são alterações isoladas e que não refletem a administração medicamentosa de benzodiazepínicos ou ao processo de privação de sono, uma vez que foram observadas em poucos ratos.

FIGURA 3 - HISTOPATOLOGIA DE HIPOCAMPO DE RATOS WISTAR SUBMETIDOS A DIFERENTES PROTOCOLOS TERAPÊUTICOS E DE INSÔNIA. A) IMAGEM DE HIPOCAMPO NORMAL SEM ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS. H&E, 20X. B) NEURÔNIOS HIPOCAMPAIS EM MAIOR AUMENTO. NOTAR A ORGANIZAÇÃO LAMINAR DOS NEURÔNIOS E A AUSÊNCIA DE OUTRAS CÉLULAS GLIAIS. H&E, 40X. C) HIPOCAMPO DE RATO WISTAR DO GS. H&E, 20X. D) EM MAIOR AUMENTO PERCEBE-SE INFILTRAÇÃO DE ASTRÓCITOS (ASTROCITOSE) COM DISTINTA DESORGANIZAÇÃO DAS LÂMINAS HIPOCAMPAIS (SETA). H&E, 40X. E) HIPOCAMPO DE RATO DO GD. H&E, 20X. F) NOTAR INFILTRADO ASTROCITÁRIO DIFUSO ENTRE AS LÂMINAS DE NEURÔNIOS HIPOCAMPAIS (SETA). H&E, 40X. G) HIPOCAMPO DE RATO DO GC. H&E, 20X. H) NOTAR A PRESENÇA DE INFILTRADOS DE ASTÓCITOS ENTRE AS LÂMINAS HIPOCAMPAIS (SETA). H&E, 40X.



FONTE: O autor (2016).

4.4 CONCLUSÕES GERAIS

O tratamento com diazepam ou midazolam causa prejuízo na memória espacial hipocampo-dependente em ratos Wistar privados de sono por 48 horas. Tal privação de sono não gera alterações histopatológicas no hipocampo.

REFERÊNCIAS

- BERNIK, M. A. Benzodiazepínicos: quatro décadas de experiência. São Paulo: Edusp. 242p, 1999.
- BERTRAND, F., LEHMANN, O., LAZARUS, C., et al. Intraseptal infusions of 8-OH-DPAT in the rat impairs water-maze performances, effects on memory or anxiety. *Neuroscience Letters*. v.297, p.48-48, 2000.
- BLISS, T. V. P., COLLINGRIDGE, G. L. Asynaptic model of memory: Long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*. v.361, p.31-39, 1993.
- BORBÉLY, A. A.; ACHERMANN, P. Sleep Homeostasis and Models of Sleep Regulation. *Journal of Biological Rhythms*. v.14 n.6, p. 559-568, 1999.
- BRIONI, J. D. Role of GABA during the multiple consolidation of memory. *Drug Development Research*. v.28, v.3-27, 1993.
- BUFFETT-JERROTT, S. E., STEWART, S. H. Cognitive and sedative effects of benzodiazepine use. *Curr Pharm Des*. v.8, n.1, p.45-58, 2002.
- CASTELLANO, C. et al. GABAergic modulation of memory. In: SQUIRE, L.; LINDENLAUB, E., eds. *Biology of memorys*. I, Schattauer Verlag. p.361-78, 1990.
- CURRAN, H. V. Benzodiazepines, memory and mood: a review. *Psychopharmacology*. v.105, p.1–8, 1991.
- del CERRO, S., JUNG, M., LYNCH, G. Benzodiazepines block long-term potentiation in slices of hippocampus and piriform cortex. *Neuroscience* v.49, n.1, p.1-6, 1992.
- EBERHART, R.; HU, X.; FORESMAN, B. H. Dangers of sleepiness and inattention while driving. *The Journal of the American Osteopathic Association*. v.100, n.8, p.9-14, 2000.
- EUROPEAN MEDICINES AGENCY. Summary of product characteristics for benzodiazepines as anxiolytics or hypnotics. EMA, 1994.
- EVANS, M. S.; VIOLA-MCCABEK, E. Midazolam inhibits long-term potentiation through modulation of GABAA receptors. *Neuropharmacology*. v.35, n.3, p.347-358, 1996.
- FANTONI, D. T.; CORTOPASSI, S. R. Medicções pré-anestésicas. In: *Anestesia em cães e gatos*. São Paulo: ed. Roca. p.151-158, 2002.
- FOSTER, R. G.; WULFF, K. The rhythm of rest and excess. *Nat Rev Neurosci*. v.6, n.5, p.407-14, 2005.
- GRAEFF, F.G.; GUIMARAES, F.S. *Fundamentos de Psicofarmacologia*. São Paulo, editora Ateneu, 1999.

GREENBLATT, D. J. Pharmacology of benzodiazepine hypnotics. *J. Clin. Psychiatry*, v.53, p.7–13, 1992.

GRIFFIN III, C. E.; KAYE, A. M.; BUENO, F. R.; KAYE, A. D. D. Benzodiazepine Pharmacology and Central Nervous System–Mediated Effects. *The Ochsner Journal*. v.13, p.214–223, 2013.

HOBBS, W. R., RALL, T. W., VERDOORN, T. A., Hypnotics and sedatives. In: Hardman, J.G., Limbird, L.E., Molinoff, P.B., Ruddon, R.W., Gilman, A.G., Goodman & Gillman's. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 9 ed. McGraw-Hill, New York, p.361–396, 1996.

HOGAN, J. B.; HODGESJR, D.B.; LELAS, S.; GILLIGAN, P.J. et al. Effects of CRF₁ receptor antagonists and benzodiazepines in the Morris water maze and delayed non-matching to position tests *Psychopharmacology*. v.178, n.4, p.410–419, 2005.

IZQUIERDO, I. *Memória*. Porto Alegre, ArtMed Editora S.A. 2002.

IZQUIERDO, I., MEDINA, J. H. The biochemistry of memory formation and its regulation by hormones and neuromodulators. *Psychobiology*. v. 25, p.1-9, 1997.

IZQUIERDO, I., MEDINA, J. H. GABAA receptor modulation of memory: the role of endogenous benzodiazepines. *Trends Pharmacol Sci*. v.12, n.7, p.260-265, 1991.

IZQUIERDO, I. DA CUNHA, C. ROSAT, R., JERUSALINSKY, D.. FERREIRA, M.B. et al. Neurotransmitter receptors involved in memory processing by the amygdala, medial septum and hippocampus of rats. *Behavioral and Neural Biology*. v.58, 16-26, 1992.

KORPI, E. R., GRUNDER, G., LUDDENS, H. Drug interactions at GABA(A) receptors. *Prog Neurobiol*. v.67, p.113-159, 2002.

KUPPERMANN, M.; LUBECK, D. P.;MAZONSON, P. D.; PATRICK, D. L., et al. Sleep problems and their correlates in a working population. *Journal of General Internal Medicine*. v.10, n.1, p.25–32, 1995.

LABAR, K. S., CABEZA, R. Cognitive neuroscience of emotional memory. *Nature Reviews Neuroscience*. v.7, p.54-64, 2006.

LADER, M. H.; PETURSSON, H. Benzodiazepine derivatives – side effects and dangers. *Biological Psychiatry*, v.16, p. 1195-1201, 1981.

LISTER, R. The amnestic action of benzodiazepines in man. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, v.9, p.87-94, 1985.

LONGO, A. C., JOHNSON, B. Addiction: Part I. Benzodiazepines - Side Effects, Abuse Risk and Alternatives. *Am Fam Physician*. v.61, n.7, p.2121-2128, 2000.

LUNA, L.G. *Manual of the histologic staining methods of the armed forces institute of pathology*. 3.ed. New York : McGraw Hill, 1968. 258p.

MARTINEZ, D.; LENS, M. C. S.; MENNA-BARRETO, L. Diagnóstico dos transtornos de sono relacionados ao ritmo circadiano. J Bras Pneumol., v.34, n.3, p.173-180, 2008.

McNAMARA, R. K.; dePAPE, G. E.; SKELTON, R. W. Differential effects of benzodiazepine receptor agonists on hippocampal long-term potentiation and spatial learning in the Morris water maze. Brain Research, v. 626, p. 63-70, 1993.

MORIN, C. M. Insomnia: Psychological Assessment and management. New York, The Guilford Press, 1993.

MORIN, C. M.; CULBERT, J. P., SCHWARTZ, S. M. Nonpharmacological interventions for insomnia: a meta-analysis of treatment efficacy. Am. J. Psychiatry, v.151, p.1172-1180, 1994.

MORRIS, R. G., GARRUD, P., RAWLINS, J. N., O'KEEFE, J. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. Nature. v.297, p.681-683, 1982.

NIMHCDC - National Institute of Mental Health, Consensus Development Conference: Drugs and Insomnia: The use of medications to promote sleep. JAMA, v.251, p.2410, 1984.

PADDLEFORD, R. R. Drogas pré-anestésicas. In: Manual de anestesia em pequenos animais. 2 ed. São Paulo: Roca. p.15-35, 2001.

POMPEIA, S., GOREINSTEIN, C. Benzodiazepínicos e desempenho psicomotor cognitivo. In: BERNIK, M. A. Benzodiazepínicos: quatro décadas de experiência. São Paulo: Edusp. 242p, 2004.

POYARES, D.; GUILLEMINAULT, C.; OHAYON, M. M.; TUFIK, S. Chronic benzodiazepine usage and withdrawal in insomnia patients. Journal of Psychiatric Research, v.38, p.327-334, 2004.

QUEVEDO, D.; FEIER, G; AGOSTINHO, F. R., et al. Memory consolidation and posttraumatic stress disorder Rev. Bras. Psiquiatr. v.25, n.1, 2003.

RECHSTCHAFFEN, A., KALES, A. A manual of standardized terminology, techniques, and scoring system for sleep stages of human subjects. Washington: U.S. Government Printing office, 1968.

REVEL, F. G.; GOTTOWIK, J.; GATTI, S.; WETTSTEIN, J. G.; MOREAU, J. L. Rodent models of insomnia: a review of experimental procedures that induce sleep disturbances. Neurosci. Biobehav. Rev. v.33, p.874-899, 2009.

RUDOLPH, U.; MOHLER, H. Analysis of GABA_A receptor function and dissection of the pharmacology of benzodiazepines and general anesthetics through mouse genetics. Annu Rev Pharmacol Toxicol, v.44, p.475-498, 2004.

SAVIC, M. M.; MARIJA, M. M.; RALLAPALLI, S.; CLAYTON, T.R et al The differential role of α 1- and α 5-containing GABAA receptors in mediating diazepam effects on

spontaneous locomotor activity and water-maze learning and memory in rats. *Int J Neuropsychopharmacol.* v.12, n.9, p.1170-1193, 2009.

SILVA, R. H., FRUSSA-FILHO, R. The plus-maze discriminative avoidance task: a new model to study memory-anxiety interactions. Effects of chlordiazepoxide and caffeine. *J Neurosci Methods*, v. 30; n.102, p.117-25, 2000.

TIMO-IARIA, C.; NEGRÃO, N.; SCHIMIDEK, W. R.; et al. Phases and states of sleep in the rat. *Physiology and Behavior*. v. 5, p.1057-1062, 1970.

TOMAZ, C. *Psicobiologia da memória*. Psicol. USP. v.4, n.1-2, São Paulo, 1993.

TIMO-IARIA, C. *Evolução histórica do estudo do Sono*. In: TUFIK, S. *Medicina e Biologia do Sono*. São Paulo, Manole, 483p, 2008

VORHEES, C. V., WILLIAMS, M. T. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nat Protoc.* v.1, n.2, p.848–858, 2006.

XIAO-DONG HU, YU-XING GE, NENG-WEI HU, XIANGUO LIU. Diazepam inhibits the induction and maintenance of LTP of C-fiber evoked field potentials in spinal dorsal horn of rats. v.50, n.2, p.238-44, 2006.

ZANOTTI, A.; ARBAN, R.; PERAZZOLO, M.; GIUSTI, P. Diazepam impairs place learning in naive but not in maze-experienced rats in the Morris water maze. v.115, n.1, p.73–78, 1994.

REFERÊNCIAS

- ADES, C. Por uma história natural da memória. *Psicologia USP*. v.4, n.1-2, p.25- 47, 1993.
- ALBERINI, C. M. The role of protein synthesis during the labile phases of memory: revisiting the skepticism. *Neurobiol Learn Mem*. v.89, p.234–246, 2008.
- ALOÉ, F., SILVA, A. D. Benzodiazepínicos no tratamento das insônias. *Moreira Junior*. p.376-389, 2000.
- ASERINSKY, E.; KLEITMAN, N. Regularly occurring periods of eye motility, and concomitant phenomena, during sleep. *Science*. v.118, p.273-4, 1953.
- BADDELEY, A. D. *Memória humana. Teoria e prática*. Mc. Graw Hill Editora Madrid; 1999.
- BAKER, T. I. Introduction to sleep disorders. *Med. Clin. North. Am*. v.69, p.1123-1152, 1990.
- BALDWIN, D. S, AITCHISON, K., BATESON, A. et al. Benzodiazepines: Risks and benefits. A reconsideration. *J Psychopharmacol*. v.27, p.967-971, 2013.
- BANKS, S., DINGES, D. F. Behavioral and physiological consequences of sleep restriction. *J. Clin. Sleep Med*. v.3, p.519-528, 2007.
- BARNES, C. A. Memory deficits associated with senescence: a neurophysiological and behavioral study in the rat. *J Comp Physiol Psychol*. v.93, p.74-104. 1979.
- BERGANTIM, R. F. C., GUERRA, M., FORTUNATO, J. S. Sono REM e ontogenese *Revista Portuguesa de Psicossomática*. v.5, n.2, p.127-139, 2003.
- BERNIK, M. A. *Benzodiazepínicos: quatro décadas de experiência*. São Paulo: Edusp. 242p, 1999.
- BERTRAND, F., LEHMANN, O., LAZARUS, C., et al. Intraseptal infusions of 8-OH-DPAT in the rat impairs water-maze performances, effects on memory or anxiety. *Neuroscience Letters*. v.297, p.48-48, 2000.
- BLISS, T. V. P., COLLINGRIDGE, G. L. Asynaptic model of memory: Long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*. v.361, p.31-39, 1993.
- BORBÉLY, A. A.; ACHERMANN, P. Sleep Homeostasis and Models of Sleep Regulation. *Journal of Biological Rhythms*. v.14 n.6, p. 559-568, 1999.
- BRADBURY, P. *Histological Methods*. In: *Hewer's Textbook of Histology for Medical Students*. 9th Ed. ELBS. p.431-450, 1992.
- BRIONI, J. D. Role of GABA during the multiple consolidation of memory. *Drug Development Research*. v.28, v.3-27, 1993.
- BUELA, G. Avaliação dos distúrbios de iniciar e manter o sono. In: Reimão R. *Sono: aspectos atuais*, Rio de Janeiro: Atheneu Editora, 1990.
- BUFFETT-JERROTT, S. E., STEWART, S. H. Cognitive and sedative effects of benzodiazepine use. *Curr Pharm Des*. v.8, n.1, p.45-58, 2002.
- CARSKADON, M. A., CARSKADON, W. C. D. Chapter 2 – Normal Human Sleep : Monitoring and staging human sleep. In M.H. Kryger, T. Roth, & W.C. Dement (Eds.), *Principles and practice of sleep medicine*, Elsevier Saunders, 5 ed. p.16-26, 2011.
- CARRILLO-MORA, P. Sistemas de memoria: reseña histórica, clasificación y conceptos actuales. *Salud Mental*, v.33, n.1, p. 85-93, 2010.

CASTELLANO, C. et al. GABAergic modulation of memory. In: SQUIRE, L.; LINDENLAUB, E., eds. *Biology of memory*. I, Schattauer Verlag. p.361-78, 1990.

COENEN, A. Where is the classic interference theory for sleep and memory? *Behavioral and Brain Sciences*. v.28, n.1, p.67-68, 2005.

COENEN, A. A life full of sleep. *Sleep wake*. v. 18, p. 9-24, 2008.

COLAVITO, V.; FABENE, P. F.; GRASSI-ZUCCONI, G.; PIFFERI, F.; LAMBERTY, Y.; BENTIVOGLIO, M.; BERTINI, G. Experimental sleep deprivation as a tool to test memory deficits in rodents. *Front Syst Neurosci*. v.7, n.106, 2013.

CURRAN, H. V. Benzodiazepines, memory and mood: a review. *Psychopharmacology*. v.105, p.1–8, 1991.

del CERRO, S., JUNG, M., LYNCH, G. Benzodiazepines block long-term potentiation in slices of hippocampus and piriform cortex. *Neuroscience* v.49, n.1, p.1-6, 1992.

DEMENT, W. C. The study of human sleep: a historical perspective. *Thorax*. v. 53, p. 2-7, 1998.

DIEKELMANN, S.; BORN, J. The memory function of sleep. *Nat Rev Neurosci*, v.11, p.114-126, 2010.

DOGHRAJJI, P. P. Treatment of insomnia with zaleplon, a novel sleep medication. *International Journal of Clinical Practice*. v.55, n.5, p.329-334, 2001.

EBERHART, R.; HU, X.; FORESMAN, B. H. Dangers of sleepiness and inattention while driving. *The Journal of the American Osteopathic Association*. v.100, n.8, p.9-14, 2000.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY. Summary of product characteristics for benzodiazepines as anxiolytics or hypnotics. EMA, 1994.

EVANS, M. S.; VIOLA-MCCABEK, E. Midazolam inhibits long-term potentiation through modulation of GABAA receptors. *Neuropharmacology*. v.35, n.3, p.347-358, 1996.

FANTONI, D. T.; CORTOPASSI, S. R. Medicções pré-anestésicas. In: *Anestesia em cães e gatos*. São Paulo: ed. Roca. p.151-158, 2002.

FERNANDES, R. M. F. O sono normal. *Distúrbios respiratórios do sono*. v.39, n.2, p.157-168, 2006.

FISHBEIN W, KASTANIOTIS C, CHATTMAN D. Paradoxical sleep: prolonged augmentation following learning. *Brain Res*. v.79, p.61-75, 1974.

FOSTER, R. G.; WULFF, K. The rhythm of rest and excess. *Nat Rev Neurosci*. v.6, n.5, p.407-14, 2005.

GAGE, S. B., MORIDE, Y., DUCRUET, T., et al., Benzodiazepine use and risk of Alzheimer's disease: case-control study. *BMJ*, 349:g5205, 2014.

GALLAGHER, M., BURWELL, R., BURCHINAL, M. Severity of spatial learning impairment in aging: development of a learning index for performance in the Morris water maze. *Behav. Neurosci*. v.107, p.618-626, 1993.

GALLISTEL, C. R. *The organization of learning*. Cambridge, MA: MIT Press, 1990.

GANHITO, N. C. P. *Distúrbios do sono*. Editora Casa do psicólogo. 245p, 2003.

GLOVELI, T. Hippocampal spatial navigation: interneurons take responsibility. *J Physiol*. v.588, p.4609–4610, 2010.

- GOMES, M. M. Bases fisiológicas do eletroencefalograma. *Revista Brasileira de Neurologia*, v.51, n.1, p.12-17, 2015.
- GRAEFF, F.G.; GUIMARAES, F.S. *Fundamentos de Psicofarmacologia*. São Paulo, editora Ateneu, 1999.
- GRAVES, L. A.; HELLER, E. A.; PACK, A. I.; ABEL, T. Sleep deprivation selectively impairs memory consolidation for contextual fear conditioning. *Learning & Memory*, v.10, p.168–176, 2003.
- GRAVES, L.; PACK, A.; ABEL, T. Sleep and memory: a molecular perspective. *Trends Neurosci*, v.24, p.237-243, 2001.
- GREEN, J. D. The hippocampus. *Physiol. Rev.* v. 44, p. 561-608, 1964.
- GREENBLATT, D. J. Pharmacology of benzodiazepine hypnotics. *J. Clin. Psychiatry*, v.53, p.7–13, 1992.
- GRIFFIN III, C. E.; KAYE, A. M.; BUENO, F. R.; KAYE, A. D. D. Benzodiazepine Pharmacology and Central Nervous System–Mediated Effects. *The Ochsner Journal*. v.13, p.214–223, 2013.
- HAEFELY, W. E. The GABAA-benzodiazepine receptor: biology and pharmacology. In: BURROWS, G. D.; ROTH, R.; NOYES, J. R: *Handbook of anxiety, The Neurobiology of anxiety*. Elsevier Science Publishers, Amsterdam. v.3. p.165-188, 1990.
- HELMSTAEDER, C. L, ELGER, C. E. Cognitive consequences of two-thirds anterior temporal lobectomy on verbal memory in 144 patients: A three-month follow-up study. *Epilepsia*; v.37, n.2, p.171-180, 1996.
- HOBBS, W. R., RALL, T. W., VERDOORN, T. A., Hypnotics and sedatives. In: Hardman, J.G., Limbird, L.E., Molinoff, P.B., Ruddon, R.W., Gilman, A.G., Goodman & Gilman's. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 9 ed. McGraw-Hill, New York, p.361–396, 1996.
- HOGAN, J. B.; HODGESJR, D.B.; LELAS, S.; GILLIGAN, P.J. et al. Effects of CRF₁ receptor antagonists and benzodiazepines in the Morris water maze and delayed non-matching to position tests *Psychopharmacology*. v.178, n.4, p.410–419, 2005.
- IZQUIERDO, I. *Memória*. Porto Alegre, ArtMed Editora S.A. 2002.
- IZQUIERDO, I. *Memórias. Estudos avançados*. São Paulo. v.3, n.6, 1989.
- IZQUIERDO, I., MEDINA, J. H. The biochemistry of memory formation and its regulation by hormones and neuromodulators. *Psychobiology*. v. 25, p.1-9, 1997.
- IZQUIERDO, I., MEDINA, J. H. GABAA receptor modulation of memory: the role of endogenous benzodiazepines. *Trends Pharmacol Sci*. v.12, n.7, p.260-265, 1991.
- IZQUIERDO, I. DA CUNHA, C. ROSAT, R., JERUSALINSKY, D.. FERREIRA, M.B. et al. Neurotransmitter receptors involved in memory processing by the amygdala, medial septum and hippocampus of rats. *Behavioral and Neural Biology*. v.58, 16-26, 1992.
- JINDAL, R. D., BUYSSE, D. J., THASE, M.E. Maintenance Treatment of Insomnia: What Can We Learn From the Depression Literature? *The American Journal of Psychiatry* v.161, n.1, p. 19-24, 2004
- KANDEL, E. R.; SCHWARTZ, J. H.; JESSELL, T. M.; et al. *Fundamentos da Neurociência e Comportamento*. Rio de Janeiro, RJ. Guanabara Koogan, 2002.
- KANDEL, E. R.; SCHWARTZ, J. H.; JESSELL, T. M.; et al. *Fundamentos da Neurociência e Comportamento*. Porto Alegre, RS. AMGH Editora LTDA, 2014.
- KIRKWOOD, C. K. "Management of insomnia". *J Am Pharm Assoc*. v.39, n.5, p.688–696, 1999.

- KORPI, E. R., GRUNDER, G., LUDDENS, H. Drug interactions at GABA(A) receptors. *Prog Neurobiol.* v.67, p.113-159, 2002.
- KUPPERMANN, M.; LUBECK, D. P.; MAZONSON, P. D.; PATRICK, D. L., et al. Sleep problems and their correlates in a working population. *Journal of General Internal Medicine.* v.10, n.1, p.25–32, 1995.
- KRUEGUER, J. A.; Jr OBÁL, F.; FANG, J. Why we sleep: a theoretical view of sleep function. *Sleep Med Rev*, v.3, p.119-129, 1999.
- LABAR, K. S., CABEZA, R. Cognitive neuroscience of emotional memory. *Nature Reviews Neuroscience.* v.7, p.54-64, 2006.
- LADER, M. H.; PETURSSON, H. Benzodiazepine derivatives – side effects and dangers. *Biological Psychiatry*, v.16, p. 1195-1201, 1981.
- LANDEIRA-FERNANDEZ, J.; BRANDÃO, M. L. Disfunções minemônicas. Em: Marcus Brandão; Frederico Graeff. (Org). *Neurobiologia dos transtornos mentais.* Rio de Janeiro: Atheneu, p.222- 244, 2014.
- LAVIE P. The enchanted world of sleep. New Haven: Yale University Press, 1996.
- LENT, R. Cem Bilhões de Neurônios? Conceitos Fundamentais de Neurociência - 2ª edição. Atheneu, 2010.
- LISTER, R. The amnestic action of benzodiazepines in man. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, v.9, p.87-94, 1985.
- LOMBROSO, P. Aprendizado e memória. *Ver. Bras. Psiquiatr.* v.26, n.3, p. 207-210, 2004.
- LOOMIS, A. L., HARVEY E. N., HOBART, G. A. Cerebral states during sleep, as studied by human brain potentials. *J. exp. Psychoz.* v.21, p.127-144, 1937.
- LONGO, A. C., JOHNSON, B. Addiction: Part I. Benzodiazepines - Side Effects, Abuse Risk and Alternatives. *Am Fam Physician.* v.61, n.7, p.2121-2128, 2000.
- LUNA, L.G. Manual of the histologic staining methods of the armed forces institute of pathology. 3.ed. New York : McGraw Hill, 1968. 258p.
- LYZNICKI, J. M., DOEGE, T. C., DAVIS, R. M., WILLIAMS, M. A. Sleepiness, driving, and motor vehicle crashes. Council on Scientific Affairs, American Medical Association. *JAMA.* v.17, n.279, p.1908-1913, 1998.
- MACHADO, R.B.; HIPOLIDE D.C.; BENEDITO-SILVA A.A.; TUFIK S. Sleep deprivation induced by the modified multiple platform technique: quantification of sleep loss and recovery. *Brain Res.* v.1004, p.45–51, 2004.
- MARTINS, P. J. F.; MELLO, M. T.; TUFIK, S. Exercício e sono. *Ver Bras Med Esporte.* v.7, n.1, 28-36, 2001.
- MARKOWITSCH, H. J., PRITZEL, M. The neuropathology of amnesia. *Progr. Neurobiol.* v.25, p.189-287, 1985.
- MARTINEZ, D.; LENS, M. C. S.; MENNA-BARRETO, L. Diagnóstico dos transtornos de sono relacionados ai ritmo circadiano. *J Bras Pneumol.*, v.34, n.3, p.173-180, 2008.
- McNAMARA, R. K.; dePAPE, G. E.; SKELTON, R. W. Differential effects of benzodiazepine receptor agonists on hippocampal long-term potentiation and spatial learning in the Morris water maze. *Brain Research*, v. 626, p. 63-70, 1993.

- McCALL, W. V. A psychiatric perspective on insomnia. *J Clin Psychiatry*. v.62, n.10, p.27-32, 2001.
- McCARLEY R. W. Neurobiology of REM and NREM sleep. *Sleep Med*. v.8, p.302-330, 2007.
- McCARTHY, M. E.; WATERS, W. F. Decreased attentional responsivity during sleep deprivation: orienting response latency, amplitude, and habitation. *Sleep*, v.20, p. 115-123, 1997.
- McGOUGH, J. L. Time-dependent process in memory storage. *Science*. v.153, p.1351-1358, 1966.
- McGOUGH, J. L. Memory – A century of consolidation. *Science*. v.287, p.248-251, 2000.
- MAQUET, P.; DEGUELDRE, C.; DELFIORE, G.; AERTS, J.; PÉTERS, J. M.; et al. Functional neuroanatomy of human slow wave sleep. *J. Neurosci*. v.17, p. 2807-2812, 1997.
- MAQUET, P. The role of sleep in learning and memory. *Science*. v.294, p.1048-1052, 2001.
- MENDELSON, W. B.; GUTHRIE, R. D.; FREDERICK, G.; WYATT, R. J. The flower pot technique of rapid eye movement (REM) sleep deprivation. *Pharmacol. Biochem. Behav*. v.2, p.553–556, 1974.
- MENDELSON, W. B. Hypnotics: Basic Mechanisms and Pharmacology. In: Kryger, M. H.; Roth.; Dement W.C. *Principles and Practice of Sleep Medicine*. 3rd edition. WB Saunders, Philadelphia, p. 407-414, 2000.
- MENDELSON, W. B., ROTH, T., CASSELLA, J., ROEHRS, T., et al. The treatment of chronic insomnia: drug indications, chronic use and abuse liability. Summary of a 2001 New Clinical Drug Evaluation Unit meeting symposium. *Sleep Med Rev* v.8, n.1, p.7-17, 2004.
- MORDEN, B.; MITCHELL, G.; DEMENT W. Selective REM sleep deprivation and compensation phenomena in the rat. *Brain Res*. v.5, p.339–349, 1967.
- MORIN, C. M. *Insomnia: Psychological Assessment and management*. New York, The Guilford Press, 1993.
- MORIN, C. M.; CULBERT, J. P., SCHWARTZ, S. M. Nonpharmacological interventions for insomnia: a meta-analysis of treatment efficacy. *Am. J. Psychiatry*, v.151, p.1172-1180, 1994.
- MORIN, C. M.; BASTIEN, C.; GUAY, B.; RADOUCO-THOMAS, M.; LEBLANC, J.; et al. Randomized clinical trial of supervised tapering and cognitive behavior therapy to facilitate benzodiazepine discontinuation in older adults with chronic insomnia. *Am J Psychiatry*. v.161, p.332-342, 2004.
- MORRIS, R. G. Spatial localization does not require the presence of local cues, *Learn. Motiv*. v.12, p.239-260, 1981.
- MORRIS, R. G.; GARRUD, P.; RAWLINS, J. N.; O'KEEFE, J. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature*. v.297, p.681-683, 1982.
- NHLBI - National Heart, Lung and Blood Institute Working Group on Insomnia: assessment and management in primary care. *Am. Fam. Physician*. v.59, p. 3029-3038, 1999.
- NIMHCDC - National Institute of Mental Health, Consensus Development Conference: Drugs and Insomnia: The use of medications to promote sleep. *JAMA*, v.251, p.2410, 1984.
- NUNES, M. L.; CAVALCANTE, V. Avaliação clínica e manejo da insônia em pacientes pediátricos. *Jornal de Pediatria*, v.81, p.277-286, 2005.
- OHAYON, M. M., Epidemiology of insomnia: what we know and what we still need to learn. *Sleep Med Rev* v.6, n.2, p.97-111, 2002.
- O'KEEFE, J., NADEL, I. *The Hippocampus as a Cognitive Map*. Oxford University Press, 1978.

OLTON, D. S., SAMUELSON, R. J. Remembrance of place passed. Spatial memory in rats. *J Exp Psychol: Anim Behav Process.* v.2, p.97–116, 1976.

OSWALD, I. The why and how of hypnotic drugs. *Br. Med. J.* v.1, p.1167-1168, 1979.

PACE-SCHOTT, E. F.; HOBSON, J. A. The neurobiology of sleep: genetics, cellular physiology and subcortical networks. *Nat. Rev. Neurosci.* v.3, p.591–605, 2002.

PADDLEFORD, R. R. Drogas pré-anestésicas. In: *Manual de anestesia em pequenos animais.* 2 ed. São Paulo: Roca. p.15-35, 2001.

PASSOS, G. S.; TUFIK, S.; SANTANA, M. G.; POYARES, D.; MELLO, M. T. Tratamento não farmacológico para a insônia crônica. *Rev. Bras, Psiquiatr.* v.29, n.3, 2007.

PIRES, M. I., BENEDITO-SILVA, A. A., MELLO, M. T., et al. Sleep habits and complaints of adults in the city of São Paulo, Brazil, in 1987 e 1995. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research.* v. 40, 1505-1515, p.2007.

POMPEIA, S., GOREINSTEIN, C. Benzodiazepínicos e desempenho psicomotor cognitivo. In: BERNIK, M. A. Benzodiazepínicos: quatro décadas de experiência. São Paulo: Edusp. 242p, 2004.

PORTUGUEZ, M. W. Avaliação Pré Cirúrgica do Lobo Temporal: Linguagem e Memória. In: DA COSTA C. J., PALMINI A, YACUBIAN E. M., CAVALHEIRO E. *Fundamentos Neurobiológicos das Epilepsias: Aspectos Clínicos E Cirúrgicos:* Lemos Editorial; São Paulo, v.2, p.939- 56, 1998

POYARES, D.; GUILLEMINAULT, C.; OHAYON, M. M.; TUFIK, S. Chronic benzodiazepine usage and withdrawal in insomnia patients. *Journal of Psychiatric Research.* v.38, p.327-334, 2004.

POYARES, D, TUFIK, S. coordenadores, I Consenso brasileiro de insônia. *Hypnos.* v.4, p.5- 39, 2003.

POYARES, D.; PINTO, J. L.; TAVARES, S.; BARROS-VIEIRA S. Hipnoindutores e insônia. *Rev Bras Psiquiatr.* v. 27, p.2-7, 2005.

PRIEST, R. G. Sleep and its disorders. In *Current Themes in Psychiatry*, eds Gaing R.G. & Hudson, Barbara, p. 83-93, 1978.

QUEVEDO, D.; FEIER, G; AGOSTINHO, F. R., et al. Memory consolidation and posttraumatic stress disorder *Rev. Bras. Psiquiatr.* v.25, n.1, 2003.

RECHTSCHAFFEN, A. Current perspectives on the function of sleep. *Perspect. Biol. Med.* v.41, p. 359-390, 1998.

RECHTSCHAFFEN, A. BERGMANN, B.M. Sleep deprivation in the rat by the disk over-water method, *Behav Brain Res.* v.69, p.55-63, 1995.

RECHTSCHAFFEN, A., KALES, A. A manual of standardized terminology, techniques, and scoring system for sleep stages of human subjects. Washington: U.S. Government Printing office, 1968.

REVEL, F. G.; GOTTOWIK, J.; GATTI, S.; WETTSTEIN, J. G.; MOREAU, J. L. Rodent models of insomnia: a review of experimental procedures that induce sleep disturbances. *Neurosci. Biobehav. Rev.* v.33, p.874–899, 2009.

RUDOLPH, U.; MOHLER, H. Analysis of GABA_A receptor function and dissection of the pharmacology of benzodiazepines and general anesthetics through mouse genetics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol,* v.44, p.475-498, 2004.

RIEMANN, D.; PERLIS, M. L. The treatments of chronic insomnia: A review of benzodiazepine receptor agonists and psychological and behavioral therapies. *Sleep Medicine.* v.13, p.205-214, 2009.

SARAIVA, E. M.; FORTUNADO, J. M. S.; GAVINA, C. Oscilações do cortisol na depressão e sono/vigília. *Revista Portuguesa de Psicossomática*, v.7, n.2, 2005.

SAVIC, M. M.; MARIJA, M. M.; RALLAPALLI, S.; CLAYTON, T. R. et al. The differential role of α 1- and α 5-containing GABAA receptors in mediating diazepam effects on spontaneous locomotor activity and water-maze learning and memory in rats. *Int J Neuropsychopharmacol*. v.12, n.9, p.1170-1193, 2009.

SCHENCK, C. H., MAHOWALD, M. W., SACK, R. L. Assessment and Management of Insomnia. *JAMA The Journal of the American Medical Association*. v.289, n.19, p.2475-2479, 2003.

SCHUTTE-RODIN, S.; BROCH, L.; BUYSSE, D. et al. Clinical Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Insomnia in Adults. *J. Clin Sleep Med*. v.15, n. 4, p.487–504, 2008.

SCOVILLE, W. B.; MILNER, B.. Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. v.20, p.11–21, 1957.

SIEGEL, J. M. The REM sleep-memory consolidation hypothesis. *Science*. v.294, p.1058-161, 2001.

SIEGHART, W.; FUCHS, K.; TRETTER, V.; EBERT, V.; JECHLINGER, M.; HOGGER, H.; ADAMIKER, D. Structure and subunit composition of GABAA receptors. *Neurochemistry International*, v.34, n.5, p.379-385, 1999.

SILBER, M. H., ANCOLI-ISRAEL, S., BONNET, M. H., CHOKROVERTY S, GRIGG-DAMBERGER, M. M., et al. The Visual Scoring of Sleep in Adults. *J Clin Sleep Med*; v.3, n.2, p.121-131, 2007.

SILVA JUNIOR, J. A. C. Ideias gerais sobre a eletrencefalografia. *Arq. Neuro-Psiquiatr*. v.3, n.2, 1945.

SILVA, R. H., FRUSSA-FILHO, R. The plus-maze discriminative avoidance task: a new model to study memory-anxiety interactions. Effects of chlordiazepoxide and caffeine. *J Neurosci Methods*, v. 30; n.102, p.117-25, 2000.

SMITH C, BUTLER S. Paradoxical sleep at selective times following training is necessary for learning. *Physiol Behav*. v.29, p.469-73, 1982.

SMITH, C., ROSE, G. M. Evidence for a paradoxal sleep window for place learning in the Morris water maze. *Physiol. Behav*. v. 59, p. 93-97, 1996.

SOUZA, J. C.; REIMAO, R. Epidemiologia da insônia. *Psicologia em Estudo*, Maringá, v.9, n.1, p.3-7, 2004.

SOUZA, A. B., SALGADO, T. D. M. Memória, aprendizagem, emoções e inteligência. *Revista Liberato*. v.16, n.26, p.141–151, 2015.

SQUIRE, L. R. Memory and the hippocampus: a synthesis from findings in rats, monkeys and humans. *Psychol Rev*. v.99, p.195–231, 1992.

STEPANSKI, E.; ZORICK, F.; ROTH T. Pharmacotherapy of Insomnia. In: Hauri, P.J. *Case Studies in Insomnia*. New York, NY. Plenum Publishing; p.115-129, 1991.

STERIADE, M., NUNEZ, A., AMZICA, F. Intracellular Analysis of Relations between the Slow (< 1 Hz) Neocortical Oscillation and other sleep rhythms of the Eletroencephalogram. *The Journal of Neuroscience*, v.13, n.8, p. 3266-3283, 1993.

STERIADE, M.; MCCARLEY, R. W., *Brain control of wakefulness and sleep*, Springer US, 2010

STERIADE, M.; TIMOFEEV, I. Neuronal plasticity in thalamocortical networks during sleep and waking oscillations. *Neuron*. v.37, p.563–576, 2003.

STICKGOLD, R.; SCOTT, L.; RITTENHOUSE, C., HOBSON, J. A. Sleep-induced changes in associative memory. *J. Cogn. Neurosci*. v.11, p.182-193, 1999.

STICKGOLD, R.; WHIDBEE, D.; SCHIRMER, B.; PATEL, V.; HOBSON, J. A. Visual discrimination task improvement: A multi-step process occurring during sleep. *J. Cogn. Neurosci.* v.12, p.246-254, 2000.

STICKGOLD, R.; HOBSON, J. A.; FOSSE, R.; FOSSE, M. Sleep, learning and dreams: Off-line memory reprocessing. *Science*. v.294, p.1052-1057, 2001.

STICKGOLD, R. Sleep-dependent memory consolidation. *Nature*. v.437, p.1272-1278, 2005.

SUCHECKI, D.; LOBO, L. L.; HIPÓLIDE, D. C.; TUFIK, S. Increased ACTH and corticosterone secretion induced by different methods of paradoxical sleep deprivation. *J Sleep Res*, v.7, p.276-281, 1998.

SUMMERS-BREMNER, E. *Insomnia: A Cultural History Hardcover*. Reaktion books Ltd 2007.

SZABADI, E. Drugs for sleep disorders: mechanisms and therapeutic prospects. *Br J Clin Pharmacol*. v.61, n.6, p.761-766, 2006.

TIMO-IARIA, C.; NEGRÃO, N.; SCHIMIDEK, W. R.; et al. Phases and states of sleep in the rat. *Physiology and Behavior*. v.5, p.1057-1062, 1970.

TIMO-IARIA, C. O sono. *Ciência Hoje*. v.4, p.66-76. 1985.

TIMO-IARIA, C. Evolução histórica do estudo do Sono. In: TUFIK, S. *Medicina e Biologia do Sono*. São Paulo, Manole, 483p, 2008.

VALLE, L.E.L.R; VALLE, E. L. R; REIMÃO, R. Sono e Aprendizagem. *Rev. Psicopedagogia*. v.26, n.80, p.286-290, 2009;

VAN HULZEN, Z. J.; COENEN, A. M. Paradoxical sleep deprivation and locomotor activity in rats. *Physiol. Behav*. v.27, p.741-744, 1981.

VORHEES, C. V., WILLIAMS, M. T. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nat Protoc*. v.1, n.2, p.848-858, 2006.

XAVIER, G. F. A modularidade da memória e o sistema nervoso. *Psicologia-USP*, v.4, p.61-115, 1993.

XIAO-DONG HU, YU-XING GE, NENG-WEI HU, XIANGUO LIU. Diazepam inhibits the induction and maintenance of LTP of C-fiber evoked field potentials in spinal dorsal horn of rats. v.50, n.2, p.238-44, 2006.

WALKER, M. P.; BRAKEFIELD, T.; HOBSON, J. A.; STICKGOLD, R. Dissociable stages of human memory consolidation and reconsolidation. *Nature*, v.425, p. 616-620, 2003.

WENK, G. L. Assessment of spatial memory using radial arm and Morris water mazes, in: J. CRAWLEY, C. GERFEN, R. MCKAY, M. ROGAWSKI, D. SIBLEY, P. SKOLNICK, *Current Protocols in Neuroscience*, Wiley, New York 1998.

WICKBOLDT, A. T.; BOWEN, A. F.; KAYE, A. J. et al. Sleep Physiology, Abnormal States, and Therapeutic Interventions. *The Ochsner Journal: Summer*. v. 12, n. 2, p. 122-134, 2012.

ZANOTTI, A.; ARBAN, R.; PERAZZOLO, M.; GIUSTI, P. Diazepam impairs place learning in naive but not in maze-experienced rats in the Morris water maze. v.115, n.1, p.73-78, 1994.